№ 63.

МАТЕРІАЛЫ
КЪ УЧЕНІЮ
О НЕОРГАНИЗОВАННЫХЪ ФЕРМЕНТАХЪ.

Изъ Физіологическаго Кабинета проф. Тарханова.

Диссертація

на степень доктора медицины

И. И. Мрочковскаго.

Цензорами, по постановленію Конференціи, были профессоры: И. Р. Тархановъ, А. Θ. Баталинъ, адъюнктъ-лаборантъ С. А. Пржибытекъ.



С.-ПЕТЕРБУРГЪ.
Типографія Д-ра Удѣлова, Моховая, № 36.
1889.

Серія диссертацій, допущенныхъ къ защитѣ въ Императорской Военно-Медицинской Академіи въ 1888—89 учебномъ году.

№ 63.

МАТЕРІАЛЫ

КЪ УЧЕНІЮ

О НЕОРГАНИЗОВАННЫХЪ ФЕРМЕНТАХЪ.

Изъ Физіологическаго Кабинета проф. Тарханова.

Диссертація

НА СТЕПЕНЬ ДОКТОРА МЕДИЦИНЫ

И. И. Мрочковскаго.



Цензорами, по постановленію Конференціи, были профессоры: И. Р. Тархановъ, А. Θ. Баталинъ, адъюнктъ-лаборантъ С. А. Пржибытекъ.

С.-ПЕТЕРБУРГЪ.
Типографія Д-та Удѣловъ, Моховая, № 36.
1889.

Докторскую диссертацію лекаря **И. Мрочковскаго** подъ заглавіемъ: «Матеріалы къ ученію о неорганизованныхъ ферментахъ» печатать разрѣшается съ тѣмъ, чтобы по отпечатаніи оной было представлено въ Конференцію Императорской военно-медицинской академіи 500 экземпляровъ ея. С.-Петербургъ, Апрѣля 15 дня. 1889 года.

Ученый Секретарь **В. Пашутинъ**.

I. – О неорганизованныхъ ферментахъ вообще. Распространеніе ихъ въ животномъ и растительномъ царствахъ. Сравненіе ихъ дѣйствія съ дѣйствіемъ ферментовъ организованныхъ (микроорганизмовъ).

§ 1. Называя неорганизованными ферментами или энзимами тѣ сложныя, органическія, азотъ содержащія, растворимыя вещества, которыя производятъ, будучи сами взяты даже въ самыхъ малыхъ количествахъ, химическія измѣненія другихъ органическихъ веществъ, превращая ихъ въ тѣла, выдѣляющія менѣе теплоты при сгораніи, чѣмъ первональныя вещества, изъ которыхъ тѣла эти произошли [1]), мы вкратцѣ опишемъ и другія, извѣстныя свойства этихъ энзимъ. При дѣйствіи ихъ на органическія вещества, получаются обыкновенно, хотя и не всегда, вещества легко диффундирующія и растворимыя или, по крайней мѣрѣ, обладающія этими свойствами въ большей степени, чѣмъ первоначальныя вещества, изъ которыхъ они произошли.

§ 2. Неорганизованные ферменты, производя вышесказанныя измѣненія извѣстныхъ органическихъ веществъ, во-первыхъ, дѣлаютъ это, будучи сами взяты и въ очень малыхъ количествахъ, такъ что многими высказывалось даже мнѣніе, что энзимы могутъ производить, свойственныя имъ, измѣненія другихъ веществъ въ неограниченно большомъ количествѣ, сами при этомъ нисколько не измѣняясь, не издерживаясь,—мнѣніе, которое, впрочемъ, теперь не можетъ быть болѣе принимаемо безъ существенныхъ ограниченій [2]). Во-вторыхъ, сказанныя

[1]) Физіолог. Химія Гоппе-Зейлера.

[2]) А именно, согласно многимъ изслѣдованіямъ, неорганизованные ферменты теряютъ отчасти свою энергію, послѣ того, какъ они произвели свойственныя имъ измѣненія. См. напр. изслѣдованіе проф. Пашутина—Wirkung d. Speichels auf Amylum. Jahresber d. Thierch. Bd. I. S. 188.

измѣненія органическихъ веществъ происходятъ подъ вліяніемъ ферментовъ (неорганизованныхъ) при извѣстныхъ только условіяхъ, какъ то: опредѣленной t°, реакціи и т. д., такъ какъ при другихъ условіяхъ неорганизованные ферменты, будучи сами веществами легко измѣняемыми, не только не проявляютъ присущаго имъ дѣйствія, но даже и сами совершенно разрушаются, такъ, напр., всѣ они, будучи нагрѣты въ водныхъ растворахъ до кипѣнія, т. е. до 100°, теряютъ окончательно присущія имъ свойства [1]); обыкновенно даже они не выносятъ и болѣе низкихъ температуръ. Въ третьихъ, всѣ неорганизованные ферменты дѣйствуютъ специфически, т. е. каждый изъ нихъ проявляетъ только одно какое-либо ему присущее дѣйствіе, дѣйствуетъ на одну только какую-либо категорію органическихъ веществъ.

§ 3. Къ этимъ характеристичнымъ признакамъ или свойствамъ неорганизованныхъ ферментовъ Schönbein [2]) присоединилъ и свойство ихъ разлагать перекись водорода H_2O_2 съ выдѣленіемъ свободнаго 0, что доказывалось посинѣніемъ гваяковой тинктуры. На этомъ основаніи Schönbein высказался за повсемѣстное распространеніе ферментовъ въ животныхъ и растительныхъ тканяхъ, ибо вытяжки изъ этихъ тканей обладали свойствомъ въ сказанныхъ условіяхъ, т. е. въ присутствіи H_2O_2, производить посинѣніе гваяковой тинктуры, наравнѣ съ такими, сравнительно, хорошо изученными и изолированными ферментами (энзимами), какъ діастазъ, эмульсинъ и пр. Но, какъ то показалъ Van den Broek [3]), гваяковая тинктура синѣетъ отъ прибавки многихъ органическихъ вытяжекъ и безъ прибавки H_2O_2, хотя и въ слабой степени, а затѣмъ—что важнѣе—нагрѣваніе до кипѣнія растворовъ, въ которыхъ предполагалось присутствіе ферментовъ, не лишаетъ эти растворы способности производить посинѣніе гваяковой тинктуры въ присутствіи H_2O_2 [4]) въ степени почти столь же значительной, какъ это производятъ и некипяченые растворы. Какъ извѣстно. (Nussbaum. Jahresber. d. Thierch VI, 269) думалъ найти реакцію на неорганизов. ферменты въ способности ихъ окрашивать-

---

[1]) Въ сухомъ же видѣ они много постояннѣе такъ, какъ, будучи высушенными, могутъ иногда выносить нагрѣваніе даже до 160° C.

[2]) Journ. f. prak. Chemie Bd. CVI, S. 256. Ueber d. Wasserstoffsuperoxyd als Mittel, die Fermentartige Beschaff. org. Materien zu erkennen.

[3]) Jahresbericht d. Chemie v. Liebig u. Kopp, 1849, S. 155.

[4]) Baranetzky. Die Stärkeumbildenden Fermente in den Pflanzen. Leipzig 1878.

ся, какъ въ водныхъ растворахъ, такъ и при содержаніи ихъ въ протоплазмѣ клѣтокъ, въ черный цвѣтъ отъ осміевой кислоты. Послѣ кипяченія, ферменты теряли эту способность. Но Grützner (Jahresber. d. Thierch VII, S. 367) показалъ, что этой реакціи нельзя придавать особеннаго значенія, въ качествѣ указателя для ферментовъ, ибо напр. желѣзистыя клѣтки gl. submaxill. кролика лишенныя діастатическаго фермента, окрашиваются въ черный цвѣтъ отъ осміевой кислоты. Какъ бы то нибыло, несомнѣнно, что неорганизованные ферменты (энзимы) представляются веществами далеко еще невполнѣ изученными:—они не были, можно сказать, еще получены въ совершенно чистомъ видѣ и тѣ цифры, которыя были найдены относительно элементарнаго состава нѣкоторыхъ изъ нихъ, напр. эмульсина Aug. Schmidt'омъ, діастаза—Lintner'омъ (см. Jahresber. d. Thierch. Bd. XVI, S. 496) и др., не имѣютъ особеннаго значенія и развѣ показываютъ только, что неорганизованные ферменты содержатъ менѣе углерода и азота, а за то болѣе кислорода, чѣмъ бѣлковыя вещества. Слѣд. намъ пока остается только классифицировать ихъ по проявляемому ими дѣйствію.

§ 4. Измѣненія разныхъ органическихъ веществъ, обусловливаемыя извѣстными намъ энзимами, можно свести къ процессамъ гидратаціи [1]), при чемъ сложная частица органическаго вещества, воспринимая воду въ количествѣ 1 или болѣе частицъ, расщепляется на 2 или болѣе простѣйшихъ частицъ. Таковыя будутъ и тѣ измѣненія пищевыхъ средствъ, которыя происходятъ въ кишечномъ каналѣ подъ вліяніемъ находящихся тамъ энзимъ при актѣ пищеваренія:—превращеніе крахмала въ декстринъ и сахаръ [2]), расщепленіе жира на глицеринъ и жирную кислоту, превращеніе гликогена въ сахаръ и превращеніе тростниковаго сахара, подъ вліяніемъ инвертирующаго фермента, въ глюкозу—во всѣхъ этихъ случаяхъ мы имѣемъ дѣло съ присоединеніемъ воды, съ гидратаціей, соединенной съ расщепленіемъ, воспринявшей воду, частицы органическаго вещества. Превращеніе бѣлка въ пептонъ тоже надо считать за процессъ гидратаціи, что особенно необходимо послѣ того, какъ

---

[1]) Учебникъ Физіологіи Германна, Химія пищеваренія проф. Р. Малн.

[2]) При чемъ сложная частица крахмала, содержащая n ($C_6H_{10}O_5$) распадается, воспринимая воду въ количествѣ x частицъ, на сахаръ и декстринъ (Руков. къ физіол. Германна).

Henninger [1]) и Hofmeister [2]) доказали, первый обрабатывая пептонъ ангидридомъ уксусной кислоты, а второй при нагрѣваніи пептона до 140—147°, что въ условіяхъ дегидратаціи изъ пептона можно вновь получить вещество, обладающее всѣми качествами бѣлка, какъ то: свертываемостью при нагрѣваніи, осаждаемостью тѣми солями тяжелыхъ металловъ, которыя пептона не осаждаютъ, осаждаемостью желтою кровяною солью—уксусная кислота и т. д. Подобное же гидратаціонное дѣйствіе нужно признавать, по всей вѣроятности, и за тѣми ферментами, которые, въ противоположность другимъ, не разжижаютъ органическія вещества, а напротивъ того—свертываютъ ихъ; мы говоримъ слѣд. здѣсь о фибринъ-ферментѣ Al. Schmidt'а и сычужномъ ферментѣ или т. н. «Labferment'ѣ» Hammarsten'а, [3]). Hoppe Seyler считаетъ напр. наиболѣе вѣроятнымъ изо всѣхъ то предположеніе, что при свертываніи крови подъ вліяніемъ фибринъ-фермента происходитъ внутреннее измѣненіе молекулы фибриногена, соединенное съ воспринятіемъ воды [4]). Равнымъ образомъ и дѣйствіе Labferment'а Hammarsten'а сводится, по мнѣнію этого ученаго, къ гидролитическому расщепленію казеина на 2 бѣлковыя тѣла, изъ которыхъ одно нерастворимо—сыръ.

§ 5. Перечислимъ главнѣйшіе изъ извѣстныхъ неорганизованныхъ ферментовъ. Ферментъ діастатическій, превращающій крахмалъ въ глюкозу, т. е. собственно въ мальтозу, такъ какъ, по изслѣдованіямъ Dubrunfaut, O'Sullivan'а, а также Musculus'а и Mering'а [5]), при дѣйствіи растительнаго діастаза, слюны и сока поджелудочной железы на крахмалъ появляется не виноградный сахаръ (впрочемъ, согласно Musculus'у при этомъ образуется и незначительное количество виноградного сахара), а главнымъ образомъ, мальтоза. Пепсинъ и трипсинъ, дѣйствующіе на бѣлковыя тѣла, первый въ кислой, а второй въ особенности въ щелочной средѣ; ферментъ, расщепляющій жиры на глицеринъ и жирную кислоту; сычужный, превращающій растворимый казеинъ въ сыръ; фибринъ-ферментъ Al. Schmidt'а;

---

[1]) De la nature et du rôle physiologique des peptones. Comptes rend. LXXXVI, 1878.

[2]) Ueber die Rückbildung von Eiweiss aus Pepton. Zeitschrift für. Phys. Chemie Bd. II, S. 206.

[3]) Jahresberichte d. Thierchemie II, S. 118; IV, S. 135; VII, S. 158.

[4]) Физіологическая Химія Гоппе-Зейлера.

[5]) Ueber d. Umwandlung. von Stärke u. Glycogen durch Diastas. Speichel Pancreas u. Leberferment Zeit. f. Phys. Chemie Bd. II, S. 402.

ферментъ, расщепляющій глюкозиды на глюкозу и другое, съ нею сочетанное тѣло, напр. эмульсинъ, разлагающій амигдалинъ на глюкозу, горькоминдальное масло и синильную кислоту, ферментное дѣйствіе мирозина на органическія сѣру содержащія соединенія, заключающіяся въ растеніяхъ сем. Cruciferae, напр. распаденіе мироновой кислоты, заключающейся въ сѣменахъ черной горчицы, на глюкозу, сѣрнокаліевую соль и горчичное масло; ферментъ, превращающій тростниковый сахаръ въ глюкозу и констатированный проф. Пашутинымъ въ слизистой оболочкѣ тонкихъ кишекъ и проч. Какъ извѣстно, дѣйствіе неорганизов. ферментовъ крайне важно: безъ нихъ не могъ бы существовать ни одинъ, животный или растительный организмъ, такъ какъ только благодаря неорганиз. ферментамъ, пищевыя органическія вещества могутъ сдѣлаться удобоусвояемыми. Конечно, какъ то справедливо говоритъ Hüfner (Ueber ungef. Ferm. Journ. f. prak. Chemie N. F. Bd. 5, S. 372) и при помощи разныхъ химическихъ агентовъ мы можемъ произвесть тѣже измѣненія органическихъ веществъ, какія происходятъ и подъ вліяніемъ энзимъ. Но въ то время какъ химикъ для этого нуждается въ очень сильныхъ агентахъ, энзимы производятъ свойственныя имъ измѣненія органическихъ веществъ чрезвычайно легко, не нуждаясь для этого въ разныхъ вспомогательныхъ средствахъ напр. высокой t^0 и пр. Вспомнимъ напр., что слюнный ферментъ переводитъ крахмалъ въ сахаръ при сравнительно низкой t^0, между тѣмъ, какъ химикъ для той же цѣли прибѣгаетъ къ кипяченію крахмала съ слабой сѣрной кислотой.

§ 6. Эти энзимы, какъ извѣстно, очень распространены въ животномъ и растительномъ царствахъ. Діастатическій ферментъ, заключающійся, главнымъ образомъ, въ слюнѣ и сокѣ поджелудочной железы позвоночныхъ животныхъ, но, кромѣ того, находимый во многихъ другихъ тканяхъ и сокахъ этихъ животныхъ, напр. найденный Пашутинымъ, Виттихомъ и Эйхгорстомъ въ слизистой оболочкѣ тонкихъ кишекъ, а Béchamp и Baltus'омъ [1]) даже въ мочѣ, добытой изъ мочеточника у здоровой собаки, найденъ и у безпозвоночныхъ животныхъ, у которыхъ онъ, впрочемъ, часто вырабатывается, совмѣстно съ другими энзимами, однимъ органомъ—печенью. Напр. Krukenberg нашелъ, что печень рака вырабатываетъ не только діастатиче-

[1]) Béchamp et Baltus Comptes rend. T. 92.

скій ферментъ, но еще пепсинъ и трипсинъ [1]. Въ растительномъ царствѣ діастатическій ферментъ въ высшей степени распространенъ, встрѣчаясь не только въ проростающихъ сѣменахъ, распускающихся древесныхъ почкахъ [2]; но, какъ это показалъ Baranetzky [3]), въ большинствѣ растительныхъ тканей и преимущественно тамъ, гдѣ, какъ напр. въ проростающихъ, крахмалъ содержащихъ сѣменахъ, встрѣчаются отложенія крахмала, которыя должны быть растворены и переведены въ сахаръ при образованіи новыхъ тканей. Въ сѣменахъ же непроростающихъ Baranetzky находилъ или очень слабое, или даже никакого діастатическаго дѣйствія. Тоже и Brasse [4]) высказывается за повсемѣстное распространеніе діастатическаго фермента въ растеніяхъ, а именно онъ находилъ этотъ ферментъ въ листьяхъ многихъ растеній, какъ то: картофеля, Dahlia, свеклы, табаку и проч. И что важно, какъ увидимъ ниже, Brasse производилъ эти свои опыты въ условіяхъ антисептики, достигавшейся имъ прибавленіемъ хлороформа, который, по изслѣдованіямъ Müntz'a [5]), не вредитъ, вообще, дѣйствію діастатическаго и другихъ неорганизованныхъ ферментовъ, убивая въ тоже время бактеріи [6]).

§ 7. Ферменты, растворяющіе бѣлковыя вещества съ образованіемъ при этомъ пептоновъ, долго считались принадлежностью однихъ животныхъ организмовъ. У высшихъ позвоночныхъ, какъ извѣстно, такихъ ферментовъ два: — пепсинъ, дѣйствующій въ кислой и трипсинъ — преимущественно въ щелочной средѣ. У безпозвоночныхъ встрѣчается или одинъ трипсинъ, иногда представляющій нѣкоторыя отличія отъ обыкновеннаго трипсина, приближающія его отчасти къ пепсину, напр. въ томъ отношеніи, что кислоты, по крайней мѣрѣ органическія, какъ напр. молочная, какъ то нашелъ Krukenberg [7]), меньше вредятъ проявленію его дѣйствія, чѣмъ обыкновеннаго трипсина. У нѣкоторыхъ безпозвоночныхъ по Krukenberg'у

---

[1]) Krukenberg. Untersuch. aus d. Phys. Institute d. Univ. Heidelberg, 1882.

[2]) Payen et Persoz. Chimie Industrielle T. II.

[3]) Baranetzky l. c.

[4]) Compt rendus T. 99, p. 878.

[5]) Sur les ferments chimiques et physiologiques. Comp. rend T. 80.

[6]) Впрочемъ, нужно замѣтить, что Feltz (Expériences démontrant, que le chloroforme n'aaucune action, ni sur la septicité, ni sur les vibrioniens des sangs putréfiés Jahr. d. Thierch) не вполнѣ согласенъ съ Müntz'емъ. А по Koch'у (Flügge, l. c.) хлороформъ на споры многихъ бактерій не дѣйствуетъ.

[7]) Krukenberg Unters. aus d. Phys. Instit. d. Univ. Heidelberg, 1882.

встрѣчается только одинъ пепсинъ въ качествѣ перевариваю-щаго бѣлокъ фермента, а наконецъ встрѣчаются и такія безпозвоночныя, у которыхъ оба эти фермента встрѣчаются вмѣстѣ, притомъ, какъ сказано выше, вырабатываются они нерѣдко однимъ органомъ т. н. печенью, которая въ такомъ случаѣ служитъ единственною, ферменты образующею, пищеварительною железою у этихъ животныхъ. Изученіе пепсина безпозвоночныхъ интересно въ томъ отношеніи, что здѣсь мы видимъ многія характерныя отличія отъ обыкновеннаго пепсина, такъ напр. пепсинъ многихъ улитокъ или Helicopepsin, по Krukenberg'у, оказался лучше всего переваривающимъ бѣлокъ (фибринъ) не въ присутствіи соляной кислоты, а молочной и другихъ органическихъ кислотъ. Кромѣ того, эти пепсины, по Krukenberg'у, переваривають только сырой, а не вареный фибринъ, какъ это дѣлаетъ обыкновенный пепсинъ.

§ 8. Какъ извѣстно, и въ растеніяхъ найдены растворяющіе бѣлокъ энзимы, переводящіе бѣлокъ въ пептонъ. Такъ Дарвинъ и Hooker, первый въ растеніяхъ изъ рода Drosera, преимущ. Drosera rotundifolia, а второй у разныхъ видовъ Nepenthes (Nep. phyllamphora, Nep. gracilis) находили ферментъ, растворяющій бѣлковыя вещества на подобіе пепсина, т. е. въ кислой средѣ, причемъ, впрочемъ, лучше всего дѣйствующею въ этихъ случаяхъ оказалась не соляная кислота и вообще не минеральныя кислоты, а муравьиная и яблочная, т. е. органическія кислоты (какъ это имѣло мѣсто и съ Helicopepsin'омъ Krukenberg'а). Тоже самое нашли Gorup-Besanez и Will [1]), экспериментируя съ кислымъ сокомъ, выдѣляемымъ вышесказанными видами Nepenthes послѣ раздраженія железокъ этихъ растеній насѣкомыми. Наоборотъ, нейтрально реагирующій сокъ, который выдѣлялся не раздраженными железками, не обладалъ перевариващимъ бѣлки дѣйствіемъ. Прибавленіе къ соку вышесказанныхъ органическихъ кислотъ, въ особенности муравьиной, оказалось крайне ускоряющимъ перевариваніе. Затѣмъ, Gorup-Besanez нашелъ тоже въ проростающихъ сѣменахъ, преимущ., вики и ячменя, ферментъ, дѣйствующій на бѣлки на подобіе пепсина, т. е. въ кислой средѣ [2]). Кромѣ пептическаго, этотъ ферментъ, по Gorup-Besanez'у, оказывалъ и весьма сильное діастатическое дѣйствіе. Gorup-Besanez не

[1]) Just-Botanischer Jahresbericht, 1876.
[2]) Berichte d. Deutschen Chemischen Gesell. zu Berlin, 1875, S. 1510.

старался изолировать другъ отъ друга обоихъ ферментовъ, а прямо приписалъ одному и тому же ферменту способность производить сказанныя измѣненія обоихъ родовъ органическихъ веществъ, т. е. бѣлковъ и крахмала. Тоже и Van der Harst нашелъ пептическій ферментъ въ проростающихъ сѣменахъ Phaseolus [1]).

§ 9. Однако, по моимъ изслѣдованіямъ, въ проростающихъ сѣменахъ (пшеницы, ржи и гороха) содержится скорѣе ферментъ трипитическій, а не пепсинъ, ибо этотъ ферментъ растворяетъ, какъ я нашелъ, фибринъ лучше всего при нейтральной или слабокислой реакціи, причемъ сказанная кислая реакція была уже найдена въ глицериновомъ растворѣ самого фермента. Но въ присутствіи 0,2% HCl. растворенія и переваривація фибрина. не происходило. Опыты свои я производилъ какъ съ глицериновыми вытяжками изъ проросшихъ зеренъ сказанныхъ растеній, причемъ мелко истолченныя зерна настаивались въ теченіи нѣсколькихъ дней [2]) съ чистымъ глицериномъ, въ плотно закрытой стклянкѣ, а затѣмъ глицериновая вытяжка отфильтровывалась. Или же, для полученія фермента въ болѣе чистомъ видѣ, вышеописанныя глицериновыя вытяжки осаждались абсолютнымъ алкоголемъ и осадокъ оставлялся стоять 2 недѣли подъ спиртомъ. Послѣ чего осадокъ этотъ отфильтровывался. высушивался надъ сѣрной кислотой in Vacuo и извлекался водой. Оказалось, что 5—10 капель глицериновой вытяжки изъ проросшихъ зеренъ, прибавленныя къ 15—20 к. с. воды (дестиллированной), въ теченіи 12 часовъ и даже скорѣе (иногда 8—10 ч.) переваривали значительныя количества фибрина. лучше всего сыраго и гораздо слабѣе вареннаго, при нейтральной или слабокислой реакціи жидкости. При этомъ я долженъ замѣтить, что глицериновыя вытяжки изъ проросшихъ сѣмянъ уже сами по себѣ обладали яснокислою реакціею. Фибринъ переваривался при t° 35—40° С. При этомъ онъ постепенно изъѣдался (не набухая почти) и распадался наконецъ въ мелкіе куски, превращаясь даже въ мельчайшую пыль, оказавшуюся, по своимъ реакціямъ, веществомъ съ характеромъ глобулина, что̀ доказывалось растворимостью этой фибриновой пыли въ слабыхъ растворахъ NaCl, осажденіемъ изъ этихъ растворовъ прибавленіемъ $MgSO_4$ въ сухомъ видѣ до насыщенія жидкости, осажденіемъ—

[2]) Just-Botanischer Jahresbericht. 1876, S. 867.

[1]) Одного или двухъ.

при разведенiи раствора (солевого) — водою и пропусканiи CO_2 и, наконецъ, свертыванiемъ при нагрѣванiи солевыхъ растворовъ. Въ жидкости же, полученной послѣ переваривания фибрина, отфильтрованной отъ вышесказанной пыли, можно было доказать присутствiе пептона, при посредствѣ бiуретовой реакцiи, въ порядочномъ количествѣ. Подобнымъ образомъ переваривала фибринъ не только глицериновая вытяжка изъ проросшихъ зеренъ, но и водный фильтратъ, полученный послѣ экстрагированiя водой осадка, произведеннаго обработкою алкоголемъ глицериновой вытяжки и простоявшаго 2 недѣли подъ алкоголемъ. Въ присутствiи 0,2% HCl перевариванiе фибрина не происходило, а фибринъ только разбухалъ. Вышесказанные водные растворы фермента, будучи разъ прокипячены, теряли вполнѣ свою пищеварительную силу. Затѣмъ несомнѣнно, что мы здѣсь имѣли дѣло съ ферментомъ неорганизованнымъ, а не съ проявленiемъ жизнедѣятельности какого нибудь микроорганизма, такъ какъ прибавленiе антисептическихъ средствъ, въ дозахъ уже убiйственныхъ для бактерiй, мало вредило сказанному перевариванiю фибрина. Прибавленiе же антисептическихъ средствъ оказывалось необходимымъ потому, что въ осадкѣ, произведенномъ алкоголемъ въ глицериновой вытяжкѣ изъ проросшихъ зеренъ, какъ оказалось, находились бактерiи (или ихъ споры), которыя послѣ 2 недѣльнаго пребыванiя подъ абсолютнымъ спиртомъ, будучи посѣяны по моей просьбѣ Д-ромъ Вартановымъ, дали пышныя разводки на агаръ-агарѣ, желатинѣ и бульонѣ [1]). Полученныя культивировкой въ этихъ средахъ бактерiи, оказавшiяся способными разжижать желатину, будучи прибавлены въ самомъ маломъ количествѣ къ прокипяченной водѣ, куда былъ положенъ изрядный кусокъ сырого фибрина, въ теченiи одной ночи при t° 35—40 C. растворили фибринъ, при чемъ въ жидкости можно было констатировать присутствiе пептона и, въ особенности, громаднаго количества глобулина [2]). Я, собственно, не вдаюсь въ ближайшее разсмотрѣнiе этихъ бактерiй, а желаю только показать, на сколько важно во всѣхъ подобныхъ

---

[1]) При этомъ я работалъ такъ, что бактерiи врядъ ли могли попасть изъ воздуха въ глицер., напр. вытяжку, ибо зерна, хорошо промытыя, толклись въ прокол. ступкѣ, колба нагрѣвалась до 130° въ теченiи долгаго времени.

[2]) Контрольная же проба такого же фибрина, но положенная въ одну прокип. воду безъ прибавки бактерiй, за это время нисколько не измѣнилась.

опытахъ принимать предосторожность противъ развитія въ пищеварительныхъ жидкостяхъ микроорганизмовъ, которые могутъ своею жизнедѣятельностью воспроизвести тѣ же измѣненія бѣлковыхъ веществъ (фибрина), какъ и ферменты неорганизованные (энзимы).

§ 10. Кромѣ сказанныхъ растеній, растворяющій бѣлокъ ферментъ найденъ еще въ сокѣ Carica papaya, т. н. papayotin'ѣ, который, по изслѣдованіямъ Wurtz'a, Bouchut и Sidney H. C. Martin'a [1]) болѣе всего подходитъ по своему дѣйствію къ трипсину, переваривая фибринъ лучше всего въ нейтральной или даже слабощелочной, но не кислой средахъ. Но мои опыты показали противное: papayotin [2]) именно оказался лучше всего растворяющимъ фибринъ въ кислой средѣ (0,2% HCl), подобно пепсину, хуже въ нейтральной и еще хуже въ щелочной; однако перевариваніе происходило даже и въ ½—1% растворѣ соды. Въ нейтральной средѣ фибринъ (перевариваніе происходило при t° 35—40° C.) разъѣдался и распадался безъ предшествующаго набуханія, подобно тому, какъ это происходитъ отъ дѣйствія трипсина. Съ другой же стороны, мой papayotin дѣйствовалъ замѣтно только на сырой, а не на варенный фибринъ. Но за то, какъ сказано выше, перваго рода фибринъ онъ растворялъ очень быстро при t° 35—40° C. именно въ кислой средѣ (0,2% HCl), въ теченіи 15—20 минутъ, съ образованіемъ пептона, опредѣляемаго при посредствѣ біуретовой реакціи. При этомъ я долженъ сказать, что такъ какъ въ papayotin'ѣ уже содержатся пептоны, то, чтобы судить о появленіи ихъ при перевариваніи фибрина, дѣлался всегда контрольный опытъ: опредѣлялась степень окраски, даваемой растворомъ одного papayotin'a и такого же количества этого раствора, послѣ переваривания фибрина. Разница получалась громадная. Мнѣ незачѣмъ прибавлять, что кипяченіе вполнѣ уничтожало такое переваривающее дѣйствіе papayotin'a и что контрольная проба, сдѣланная съ одной HCl (0,2%), безъ papayotin'a въ такое же время не показала ни малѣйшаго растворенія фибрина. Поэтому въ papayotin'ѣ мы имѣемъ смѣсь двухъ ферментовъ: пептическаго и триптическаго, судя по его способности растворять и переводить въ пептонъ бѣлки (фибринъ) какъ въ кислой (0,2% HCl), такъ и щелочной средахъ.

[1]) The Journal of Phys. Vol. V и VI.

[2]) У меня былъ препаратъ отъ Merck'a.

Сюда же относятся и наблюденія Scheurer—Kestner'a, согласно которому при броженіи хлѣбнаго тѣста образуется пептическій ферментъ (Comp. rend. T. 90, p. 369). Sur un ferment digestif qui se prodiut pendant la panification.

§ 11. Мы не станемъ подробно останавливаться на описаніи распространенія другихъ неорганизованныхъ ферментовъ въ животномъ и растительномъ царствахъ. Скажемъ только, что ферментъ инвертинъ, превращающій тростниковый сахаръ въ сахаръ инвертированный, т. е. смѣсь правой и лѣвой глюкозы, по формулѣ $C_{12}\ H_{22}\ O_{11}+H_2\ O=2\ C_6\ H_{12}\ O_6$ и о нахожденіи котораго въ организмѣ животныхъ мы уже говорили, очень распространенъ и въ царствѣ растительномъ, по крайней мѣрѣ если не у высшихъ, то у низшихъ растеній. Такъ, напр., онъ находится въ дрожжахъ, какъ это показалъ Berthelot [1]) и можетъ быть оттуда изолированъ. Но объ этомъ мы скажемъ ниже.

§ 12. Ферментъ сычужный или «Labferment» Hammarsten'a, свертывающій молоко при нейтральной или даже слабощелочной реакціи, находимый преимущ. въ желудкѣ телятъ, встрѣчается не только у животныхъ, но былъ найденъ и въ растеніяхъ. Такъ Baginsky [2]) нашелъ, кромѣ Carica papaya, еще и въ нѣкоторыхъ другихъ растеніяхъ, напр. въ винныхъ ягодахъ, артишокахъ и пр. сычужный ферментъ, свертывающій молоко при нейтральной или даже слабощелочной реакціи жидкости.

§ 13. Въ такомъ положеніи находились наши свѣдѣнія о дѣйствіи неорганизованныхъ ферментовъ, когда было найдено, что процессы броженія вызываются низшими организмами и что при этихъ процессахъ получаются, нерѣдко, тѣ же продукты, которые происходятъ и отъ дѣйствія ферментовъ неорганизованныхъ. Дѣйствительно, возьмемъ напр. хоть гніеніе бѣлка: мы знаемъ цѣлый рядъ гнилостныхъ бактерій, дѣйствіемъ которыхъ бѣлокъ распадается, причемъ, кромѣ другихъ продуктовъ, появляются: глобулины, пептонъ, лейцинъ, тирозинъ и пр. Вотъ напр. перечень нѣкоторыхъ изъ такихъ бактерій [3]). Bacillus putrificus coli производитъ: пептонъ, амміакъ, жирныя кислоты, тирозинъ, фенолъ, индолъ, скатолъ и пр. Proteus

---

[1]) Sur la fermentation glucosique du sucre. de canne Comp. rend. T. 50. 1860, P. 980.

[2]) Ueber d. Vorkommen und Verhal. einiger Fermente. Zeit. f. Phys. Chem. 1883. Bd. VII.

[3]) Flügge. Die Mikroorganismen, 1886.

vulgaris, mirabilis Zenkeri—пептонъ и вонючіе газы. Bacillus fluorescens liquefaciens—пептонъ, летучія жирныя кислоты, зеленый пигментъ. Bacillus butyricus Hueppe—пептонъ, лейцинъ, тирозинъ, амміакъ, горькія вещества. Bacillus pyocyaneus—пептонъ, амміакъ. Bacillus janthinus—пептонъ, амміакъ. Дѣйствіе этихъ бактерій прослѣжено болѣе или менѣе въ чистыхъ культурахъ. Но кромѣ того вообще извѣстно, что весьма многія бактеріи, культивируемыя на желятинѣ, разжижаютъ ее. Кромѣ пептонизирующаго дѣйствія на бѣлки, многія бактеріи въ состояніи производить и другія гидролитическія измѣненія другихъ органическихъ веществъ, вполнѣ сходныя съ тѣми измѣненіями, которыя производятъ ферменты неорганизованные. Такъ бациллы молочнаго броженія, по Hueppe [1]), инвертируютъ молочный сахаръ, тростниковый и мальтозу въ глюкозу, при чемъ дисахараты, воспринимая частицу воды, расщепляются на двѣ глюкозы. Эти же бациллы обладаютъ рѣзко выраженнымъ діастатическимъ дѣйствіемъ на крахмалъ. Напротивъ того, бактерія, производящая масляное броженіе, не обладая инвертирующею способностью, можетъ зато производить свертываніе казеина на подобіе сычужнаго фермента съ послѣдующею его пептонизаціею, чего бациллы молочнаго броженія не производятъ. Вообще способность свертывать казеинъ молока присуща очень многимъ бактеріямъ, такъ какъ пептонизаціи бѣлковыхъ веществъ молока (казеина) обыкновенно предшествуетъ «сычугообразное» его свертываніе. Такое свертываніе казеина производятъ напр. Bacil. pyocyaneus, sarcina aurantiaca и пр. Изъ другихъ гидролитическихъ процессовъ, производимыхъ микроорганизмами, укажемъ на щелочное броженіе мочи, производимое Micros. Ureae (Torula Ureae), причемъ мочевина, воспринимая 2 частицы воды, переходитъ въ углекислый аммоній, а это есть чистая гидратація.

§ 14. Всѣ эти эффекты вначалѣ объяснялись просто такъ, что бактеріи своимъ жизненнымъ актомъ производятъ *всѣ* выше поименованныя измѣненія, которыя, стало быть, неразлучно связаны съ самою жизнью извѣстныхъ низшихъ организмовъ и отдѣлены отъ нихъ быть не могутъ. Напр., Pasteur объяснялъ процессы броженія такъ, что микробы, будучи лишены доступа свободнаго кислорода, разлагаютъ молекулу, подлежащаго бро-

[1]) Hueppe. Unters. über die Zersetzung der Milch durch Mikroorganismen. Mittheil. aus. d. Kaiserlichen Gesundheitsamte, 1884.

женію, органическаго вещества и воспринимаютъ освобождающійся изъ молекулы кислородъ. На этомъ основаніи, какъ извѣстно, Pasteur и раздѣляетъ микроорганизмы на aérobies, требующіе для своей жизни непремѣнно присутствія свободнаго кислорода воздуха, и anaérobies, которые могутъ жить и безъ свободнаго кислорода; но въ такомъ случаѣ эти anaérobies должны, съ цѣлью питанія, разлагать, способныя къ броженію, органическія вещества, слѣд. именно эти anaérobies и притомъ именно при отсутствіи свободнаго кислорода и производятъ явленія броженія. Pasteur говоритъ: la fermentation est la conséquence de la vie sans gaz oxygène libre. Но, какъ извѣстно, такой взглядъ Pasteur'а на процессы броженія не подтвердился. Хотя, какъ говоритъ Flügge, явленія броженія и сводятся, по всей вѣроятности, къ интрамолекулярному дыханію; но, тѣмъ не менѣе, извѣстно, что для произведенія многихъ явленій броженія доступъ свободнаго кислорода положительно необходимъ, напр. для молочнокислаго броженія (Hueppe); въ другихъ же случаяхъ, какъ напр. при масляномъ броженіи, опыты доказали, что въ бродящей жидкости всетаки кислородъ присутствуетъ, хотя и въ очень незначительныхъ количествахъ, а въ остальныхъ случаяхъ, наконецъ, хотя броженіе можетъ происходить и при почти полномъ отсутствіи свободнаго кислорода, но, тѣмъ не менѣе, и увеличенный притокъ кислорода процессу броженія не вредитъ, по крайней мѣрѣ до извѣстной границы, а даже помогаетъ. Такъ Gunning [1]) нашелъ, что, по видимому, лишенныя вовсе кислорода среды, въ которыхъ происходили процессы гніенія, при болѣе точномъ изслѣдованіи, оказывались содержащими еще кислородъ, хотя и въ малыхъ количествахъ. A. Jeanneret [2]) говоритъ, что гнилостные процессы, вызываемые организмами кишечника, какъ разложеніе азотистыхъ веществъ, такъ равно и углеводовъ, могутъ происходить въ присутствіи или отсутствіи воздуха. Такимъ образомъ, положеніе, высказанное Pasteur'омъ, не можетъ быть принято въ столь рѣзкой формѣ, безъ многихъ существенныхъ измѣненій. Напротивъ того, Liebig и Hoppe-Seyler доказывали, что броженіе не связано непремѣнно съ жизненнымъ актомъ

[1]) Ueber d. Lebensfähig. der Spaltpilze bei fehlendem Sauerstoff. Journ. f. prak. Chemie Bd. XX, 1879.

[2]) Ueber d. Zersetz. d. Gelatine u. Eiweisses durch die geform. Pankreas Fermente bei Luftausschluss, Jahresb. d. Thierch. Bd. 7 u. Journ. für praktische Chemie N. F. XV 1877.

извѣстныхъ микроорганизмовъ. Hoppe-Seyler [1]) объясняетъ всѣ процессы броженія дѣйствіемъ чисто химическихъ ферментовъ, которые, хотя и воспроизводятся низшими организмами, но изъ нихъ затѣмъ могутъ быть изолированы и, полученные въ чистомъ видѣ, безъ примѣси бактерій, они (химическіе ферменты) должны воспроизводить полную картину броженія. Онъ говоритъ [2]): подобно тому, какъ человѣкъ производитъ діастатическій ферментъ, пепсинъ, трипсинъ и т. д., имѣютъ и всѣ животныя и растенія свои ферменты, но они не тожественны съ этими ферментами. То же и Liebig, указывая на возможность выдѣлить ферменты изъ клѣтокъ высшихъ животныхъ, высказывается противу мысли, что броженіе воспроизводится непосредственно жизненнымъ актомъ бактерій. Но Nencki, Kühne и др. цѣлымъ рядомъ опытовъ доказали, что между дѣйствіемъ собственно неорганизованныхъ ферментовъ и гніеніемъ или броженіемъ, произведенными низшими организмами, существуетъ цѣлая пропасть. Kühne, какъ извѣстно, экспериментировалъ надъ панкреатической железой, желая строго отдѣлить процессъ перевариванія бѣлка, зависящій отъ дѣйствія трипсина, отъ гнилостныхъ процессовъ, которые столь легко происходятъ въ сокѣ и настоѣ панкреатической железы. Для разъединенія этихъ двухъ процессовъ, Kühne примѣнялъ салициловую кислоту [3]). Kühne бралъ 80 grm. мелко измельченной pancreas быка, размѣшивалъ въ 2 литрахъ воды и прибавлялъ туда 4 grm. салициловой кислоты. Тогда, по прошествіи нѣсколькихъ часовъ, наступало при 40°C. полное раствореніе ткани железы, появлялась масса пептоновъ, появлялись лейцинъ и тирозинъ, но не появляется ни индола, ни горючихъ газовъ, ни амміака и т. д. которые, какъ показалъ Nencki [4]), появляются при гніеніи бѣлковыхъ веществъ [5]). Такимъ образомъ, рѣзко ставилась грань между процессами гніенія, при которыхъ молекула бѣлка со-

[1]) Ueber d. Processe der Gährungen und ihre Beziehung zum Leben d. Organismen Pflüger's Archiw Bd. XII, 1876.

[2]) l. c. а также Ueber Gährungsprocesse. Zeitr. f. Phys. Chemie Bd. II 1878.

[3]) Jahresbericht d. Thierchemie VI. 1876. Ueber d. Verhalten verschied. organis. und unorg. Fermente, S. 272.

[4]) Ueber die Zersetzung der Gelatine und d. Eiweisses bei d. Fäulniss mit Pancreas, а также въ Berichte d. Deuts. Chem. Gesell. 1876. S. 300.

[5]) *Н. Васильевъ* же (Zeit. f. phys. Chemie Bd. VI. S. 112), примѣняя каломель, тоже исключилъ гнилостные процессы и пришелъ къ тѣмъ же выводамъ, что и Kühne.

вершенно распадалась и образовывалась масса, сравнительно, простыхъ веществъ и дѣйствіемъ на эти же бѣлки неорганизованныхъ ферментовъ, дѣйствіе которыхъ сводилось къ гидратаціи бѣлка, къ образованію пептона и немногихъ другихъ гидратаціонныхъ продуктовъ [1]). Однако, не надо забывать, что, сравнительно, столь простыя вещества, какъ лейцинъ, по строенію своему представляющій амидо-капроновую кислоту и тирозинъ, представляющій собою, какъ то показали Бартъ, Бейльштейнъ и Кульбергъ, по всей вѣроятности, оксифенилъ амидо-пропіоновую кислоту пара ряда, имѣющую строеніе $OHC_6H_4-CH_2-CH(NH_2)CO_2H$ и называющуюся также амидо-гидро-паракумаровою кислотою, равно какъ и аспарагиновая кислота, которая есть амидоянтарная кислота,—получаются при трипсиновомъ перевариваніи бѣлковъ и безовсякаго участія низшихъ организмовъ. Конечно, фактъ этотъ доказываетъ только, что гидролитическое расщепленіе подъ вліяніемъ энзимъ можетъ идти довольно далеко; но не опровергаетъ факта гидратаціоннаго дѣйствія энзимъ, ибо по опредѣленіямъ Schützenberger'а (Comp. rend. T. 80, p. 232) лейцинъ, тирозинъ и другія амидо кислоты получаются изъ бѣлковъ при дѣйствіи $Ba(HO)_2$ т. е. подъ вліяніемъ гидратаціи бѣлковъ. Съ другой же стороны, удалось въ болѣе или менѣе чистомъ видѣ изолировать цѣлый рядъ *химическихъ, растворимыхъ энзимъ, произведенныхъ бактеріями*, причемъ эти энзимы производили извѣстныя ферментныя измѣненія данныхъ органическихъ веществъ и безъ дальнѣйшей помощи бактерій. Такимъ образомъ, какъ бы подтверждался вышесказанный взглядъ Liebig'а и Hoppe-Seyler'а, согласно которому бактеріи только воспроизводятъ химическій, неорганизованный ферментъ, который, и послѣ отдѣленія отъ образовавшихъ его бактерій, долженъ воспроизводить всю картину броженія [2]).

---

[1]) При чемъ, какъ то показалъ Hüfner, при дѣйствіи однихъ химическихъ энзимъ, напр. трипсина на фибринъ, не происходитъ развитія газовъ (учеб. физіол. Германна).

[2]) Но, какъ будетъ изложено ниже, добытые изъ бактерій эти ферменты (не организ.) или, такъ сказать, бактерійные энзимы, въ дѣйствительности броженія собственно не производятъ, а только нѣсколько измѣняютъ подлежащія броженію вещества, такимъ образомъ, что эти вещества, въ такомъ измѣненномъ состояніи, могутъ уже начать бродить.

Положимъ, добытые бактерiйные ферменты [1]) съ одной стороны часто не были вполнѣ чистыми: — нерѣдко они содержали еще бактерiи или споры ихъ и эффектъ поэтому выходилъ смѣшанный, ибо его можно было отчасти объяснять и непосредственнымъ дѣйствiемъ самихъ бактерiй, помимо химическаго, неорганизованнаго фермента. Въ самомъ дѣлѣ, очевидно, что только тогда мы можемъ говорить о химическомъ, неорганизованномъ ферментѣ (энзимѣ), когда мы его, во-первыхъ, выдѣляли въ чистомъ видѣ, свободнымъ отъ примѣси другихъ веществъ и бактерiй, напр. когда мы его получили въ чистомъ водномъ растворѣ и затѣмъ когда приняли предосторожности отъ внѣдренiя бактерiй во время производства опыта перевариванiя. При этомъ, само собою, выдѣленный чистый ферментъ (неорганизованный) долженъ самъ по себѣ производить тѣ же химическiя дѣйствiя, какъ и тѣ бактерiи, которыя этотъ ферментъ произвели. Если предъявить всѣ эти требованiя, то увидимъ, что только немногiе химическiе ферменты (энзимы), выработанные бактерiями, могутъ считаться безупречно чистыми.

Но разсмотримъ имѣющiеся у насъ относительно вышесказаннаго факты.

§ 15. Старое наблюденiе Helmholtz'а доказывало, что дѣйствiе дрожжей не проходитъ черезъ раздѣляющiя перепонки, между тѣмъ какъ гнiенiе проходитъ, что можно было объяснить только образованiемъ во время гнiенiя растворимыхъ, химическихъ ферментовъ (энзимъ). Въ то же время Mitscherlich [2]) нашелъ въ водномъ растворѣ дрожжей вещество, которое измѣняло вращательную способность тростниковаго сахара, а затѣмъ Berthelot [3]), осаждая алкоголемъ водный настой дрожжевыхъ клѣтокъ, приготовилъ химическiй, растворимый ферментъ — *инвертинъ*, имѣющiй способность превращать тростниковый сахаръ въ глюкозу, что конечно, необходимо при алкогольномъ броженiи, такъ какъ тростниковый сахаръ непосредственно къ алкогольному броженiю не способенъ. Изолировавъ этотъ ферментъ, Berthelot съ одной стороны доказалъ, что превращенiе тростниковаго сахара въ глюкозу, предшествующее алкогольному броженiю

[1]) Бактерiйнымъ ферментомъ я здѣсь называю неорганизованный, химическiй ферментъ (энзимъ), произведенный бактерiями и изъ нихъ изолированный.

[2]) Ueber die Gährung. Monatsberichte der Berliner Academie. 1843.

[3]) Berthelot. Sur la fermentation glucosique du sucre de canne Comp. ren. T. 50.

тростниковаго сахара, совершается не янтарной кислотой, образующейся при алкогольномъ броженіи, какъ то думалъ Pasteur, а съ другой стороны онъ показалъ, что, добытый имъ инвертинъ, не способенъ произвесть алкогольнаго броженія глюкозы и что дѣйствіе его ограничивается одною только гидратаціей тростниковаго сахара. И тѣмъ не менѣе, однако, Berthelot говоритъ: «Je pense, que ce végétal (la levûre), n'agit pas sur le sucre en vertu d'un acte physiologique, mais simplement par les ferments qu'il a la propriété de sécréter au même titre, que l'orge germée sécrète la diastase, les amandes sécrètent l'émulsine, le pancréas d'un animal sécrète la pancréatine et l'estomac du même animal sécrète la pepsine»!

Кромѣ дрожжей, Bourquelot [1]) нашелъ, что изъ культуры Aspergillus niger можно выдѣлить и приготовить въ чистомъ видѣ растворимый въ водѣ, химическій ферментъ (энзимъ), имѣющій свойство превращать тростниковый сахаръ и мальтозу въ сахаръ виноградный.

§ 16. Musculus [2]) добылъ, осаждая алкоголемъ щелочнобродящую мочу, выдѣляемую лицами, страдающими катарромъ мочеваго пузыря, т. е. содержащую много слизи, ферментъ, растворимый въ водѣ, который имѣлъ способность вызывать очень быстро переходъ мочевины въ углекислый амміакъ, т. е. гидратацію мочевины, по формулѣ $CO\frac{NH_2}{NH_2} + 2H_2O = CO_3(NH_4)_2$ [3]). Конечно, водный растворъ этого Фермента не былъ вполнѣ чистъ, но въ виду того, что нагрѣваніе его даже въ сухомъ видѣ до 80° С. вполнѣ его разрушаетъ (между тѣмъ, какъ организованные ферменты много выносливѣе по отношенію къ t°), что карболовая кислота (фенолъ), легко убивающая организованные ферменты (микроорганизмы), на него не дѣйствуетъ, между тѣмъ, какъ кислоты: сѣрная, соляная, уксусная, азотная и салициловая уничтожаютъ его дѣйствіе даже въ очень слабыхъ разведеніяхъ, подобно тому, какъ онѣ вредно дѣйствуютъ и на діастатическій ферментъ слюны, надо признать, что ферментъ, добытый Musculus'омъ, ничего общаго

[1]) Comp. rend. T. 97.

[2]) Ueber die Gährung d. Harnstoffs. Pflüger's Archiv, Bd. XII, S. 214 и Comp. rend. T. LXXIII.

[3]) Какъ извѣстно, Musculus такимъ образомъ приготовилъ реагентную бумажку на мочевину, т. е. бумагу пропитанную его ферментомъ и высушенную, такъ наз. „*Ferment-Papier*“ für Harnstoff, которая, будучи сверхъ того еще пропитана куркумой, бурѣла при погруженіи въ растворъ мочевины.

съ ферментами организованными (микроорганизмами) не имѣлъ, т. е. что онъ, будучи изолированъ, могъ оказывать свое дѣйствіе на мочевину и безъ содѣйствія низшихъ организмовъ. Но такъ какъ щелочное броженіе мочи вызывается, какъ извѣстно, извѣстнымъ микроорганизмомъ, то очевидно, что этотъ микроорганизмъ производитъ сказанное броженіе не непосредственно своимъ жизненнымъ актомъ, а выработываетъ только химическій ферментъ, который уже является производящимъ броженіе мочевины агентомъ. Этотъ ферментъ Ladureau [1]) нашелъ очень распространеннымъ въ почвѣ, въ атмосферномъ воздухѣ, въ водѣ, какъ находящейся на поверхности земли, такъ и почвенной, и приписываетъ ему важное значеніе въ общей экономіи природы, такъ какъ, благодаря ему, мочевина, выдѣляемая животными, претерпѣваетъ измѣненіе въ углекислый амміакъ, что важно для ассимиляціи растеніями. Такъ какъ, добытый Ladureau, ферментъ, оказывалъ свое дѣйствіе на мочевину и въ присутствіи разныхъ антисептическихъ средствъ, которыя, за исключеніемъ впрочемъ хлороформа, мало ему вредили, то, по всей вѣроятности, ферментъ этотъ былъ неорганизованный (химическій энзимъ).

§ 17. Послѣ этого Marcano [2]) нашелъ въ поверхностныхъ клѣткахъ зеренъ маиса особый микроорганизмъ, представляющійся въ видѣ вибріона и дающій споры, который имѣетъ свойство вызывать алкогольное броженіе маисовой муки. Если такую бродящую смѣсь фильтровать при помощи искусственной пустоты черезъ глиняные, пористые цилиндры, то мы получимъ растворъ, свободный отъ бактерій, который, будучи даже обработанъ хлороформомъ для убіенія и тѣхъ бактерій, которыя бы могли еще находиться въ такомъ растворѣ, оказался обладающимъ сильнымъ діастатическимъ дѣйствіемъ на крахмалъ. Но если хлороформъ прибавлялся къ смѣси, содержавшей растертыя маисовыя зерна съ водою, до начала броженія и этимъ убивались бактеріи прежде, чѣмъ онѣ успѣли воспроизвести діастатическій ферментъ, то фильтратъ, полученный при посредствѣ процѣживанія черезъ сказанные глиняные цилиндры, никакого діастатическаго эффекта не обнаруживалъ при дѣйствіи на крахмальный клейстеръ. Производя культуры своего микроба, Marcano въ питательной жидкости, въ которой раз-

[1]) Comp. rendus, T. 99.

[2]) Comp. rend. T. 95, 1882.

вился этотъ микробъ, находилъ сильное діастатическое дѣйствіе, даже послѣ фильтрованія жидкости черезъ глиняные цилиндры и обработки жидкости хлороформомъ. Очевидно, что и здѣсь химическій ферментъ (діастазъ) былъ выработанъ бактеріями.

§ 18. Затѣмъ Wortmann [1]) доказалъ, что гнилостныя бактеріи, развивающіяся на гніющемъ картофелѣ или гніющихъ бобахъ, имѣютъ способность растворять крахмалъ, превращая его въ сахаръ, ежели у нихъ не будетъ въ распоряженіи никакой бѣлковой пищи. Это дѣйствіе, оказываемое бактеріями на крахмалъ, Wortmann приписываетъ діастатическому, неорганизованному ферменту, выдѣляемому бактеріями

Ферментъ этотъ Wortmann осаждалъ алкоголемъ изъ смѣси, содержавшей сказанныя бактеріи, полученныя культивировкой въ питательной средѣ, въ которую онъ прибавлялъ: $NaCl$, $Mgso_4$, KNO_3,$NH_4(H_2)PO_4$, и крахмалъ, который долженъ былъ доставлять бактеріямъ нужный имъ углеродъ и безъ котораго онѣ не могли бы выработать своего фермента. Затѣмъ, изъ этого алкогольнаго осадка Wortmann извлекалъ ферментъ водою, вновь осаждалъ его алкоголемъ и, повторяя эту процедуру нѣсколько разъ, онъ, какъ полагаетъ, отдѣлилъ ферментъ отъ бактерій и растворъ этого (неорганизованнаго) фермента оказался обладающимъ сильнымъ діастатическимъ дѣйствіемъ на крахмальный клейстеръ, превращая его въ сахаръ. Wortmann говоритъ, что его бактеріи только тогда производятъ этотъ діастатическій ферментъ, когда онѣ, во-первыхъ, лишены бѣлковой пищи и, во-вторыхъ, когда имъ предоставленъ въ пользованіе свободный кислородъ. Растворъ же бактерійнаго діастаза производитъ свое дѣйствіе и при отсутствіи свободнаго кислорода. Слѣд., говоритъ онъ, такъ какъ, по сдѣланнымъ имъ наблюденіямъ, при отсутствіи свободнаго кислорода, бактеріи нисколько не вліяютъ на крахмалъ, то еслибы даже въ растворѣ бактерійнаго діастаза и находились еще бактеріи, онѣ, при отсутствіи свободнаго кислорода, не могли бы проявлять никакого дѣйствія на крахмалъ. Однако, при всемъ томъ, способъ Wortmann'а не можетъ быть названъ безупречнымъ и не даетъ вполнѣ чистаго отъ бактерій неорганизованнаго фермента. Дѣйствительно, растворъ фермента у Wortmann'а проявлялъ діастатическое вліяніе на крахмалъ только по прошествіи 24 часовъ дѣйствія, т. е.

[1]) Ueber das diastatische Ferment der Bacterien. Zeit f. Phys. Chemie, Bd. VI, 1882, S. 286.

когда изъ оставшихся бактерійныхъ споръ могли уже развиться взрослыя бактеріи. Между тѣмъ, какъ извѣстно, дѣйствіе неорганизованнаго фермента (діастаза) должно проявляться очень скоро.—Съ другой стороны, наблюденіе Wortmann'a, что въ присутствіи бѣлковыхъ веществъ гнилостныя бактеріи не производятъ діастатическаго фермента, намъ кажется не согласнымъ съ опытами Seegen'a, Kratschmer'a [1]), а также и моими (которые я опишу ниже), согласно которымъ, начинающія разлагаться, бѣлковыя вещества содержатъ, діастатически на крахмалъ дѣйствующій, неорганизованный ферментъ.

§ 19. Растворяющій бѣлки ферментъ, переводящій ихъ въ пептоны, по всей вѣроятности, долженъ вырабатываться очень многими бактеріями. Быть можетъ, что всѣ бактеріи, разжижающія желятину, производятъ это разжиженіе при посредствѣ, вырабатываемаго ими, растворяющаго бѣлокъ и клей, фермента [2]). Однако, если, какъ мы видѣли, удалось во многихъ случаяхъ изолировать въ довольно чистомъ видѣ разные неорганизованные ферменты (энзимы) отъ производящихъ ихъ бактерій, то этого никоимъ образомъ нельзя сказать о пептонизирующихъ бѣлокъ энзимахъ, вырабатываемыхъ бактеріями. Такъ проф. E. Salkowski [3]) показалъ, что въ гніющемъ фибринѣ образуется растворяющій бѣлокъ ферментъ, дѣйствующій и послѣ убіенія хлороформомъ произведшихъ его бактерій. Но Salkowski не выдѣлилъ этого фермента въ чистомъ видѣ. Bitter [4]) добылъ пептонизирующій бѣлокъ ферментъ, выдѣленный Koch'овскими холерными бациллами и, чтобы отдѣлить ферментъ отъ произведшихъ его бациллъ, онъ нагрѣвалъ смѣсь этихъ бациллъ (содержавшихъ уже и готовый (неорганизованный) ферментъ) въ теченіи $^1/_2$ часа при t^0 60°, послѣ чего ферментъ, который разрушается только при 80°, все еще оказывался дѣйствующимъ на бѣлки. Оба эти пептонизирующіе бѣлокъ фермента дѣйствуютъ на подобіе трипсина, т. е. въ щелочной средѣ. Сюда же я могу причислить и свои опыты, а именно: мнѣ удалось изъ нѣсколько измѣненнаго, вслѣдствіе стоянія на воз-

[1]) Zur Kenntniss der Saccharificirenden Fermente, Jahresbericht d. Thierch. VII и Pflüger's Archiv XIV, S. 593.

[2]) Flügge, die Mikroorganismen.

[3]) Ueber d. Eiweisslösende Ferment d. Fäulnissbacterien. Zeit. f. Biologie XXV, I u. Central. f. Phys. № 20, 1889.

[4]) Ueber die Fermentausscheidung des Koch'schen Vibrio d. Chol. asiat. Schmitd's Jahrbücher за 1887, № 3. S. 235.

духѣ, бѣлка куринаго яйца извлечь и получить въ чистомъ видѣ, въ водномъ растворѣ, свободномъ отъ примѣси бѣлковыхъ веществъ, ферментъ, оказавшійся очень сильно дѣйствующимъ, на подобіе трипсина, на фибринъ. Опыты эти я опишу ниже. Здѣсь же скажу только, что на основаніи нѣкоторыхъ, ниже сообщаемыхъ опытовъ и соображеній, я могу заключить, что и у меня подобное превращеніе бѣлка изъ состоянія недѣятельнаго въ ферментъ, по всей очевидности, произошло не вслѣдствіе дѣйствія одного только кислорода воздуха, а именно при помощи бактерій. Такъ какъ далѣе опыты переваринія съ помощью образовавшагося фермента я производилъ въ условіяхъ антисептическихъ, то, очевидно, я имѣлъ дѣло съ ферментомъ неорганизованнымъ, который, будучи выдѣленъ, могъ уже затѣмъ и безъ помощи бактерій проявлять свое дѣйствіе.

§ 20. Если теперь мы бросимъ взглядъ на вышеописанные опыты, въ которыхъ изъ бактерій (или средъ, измѣненныхъ этими бактеріями) удалось выдѣлить разные химическіе, неорганизованные ферменты, производящіе затѣмъ и безъ содѣйствія бактерій химическія, свойственныя имъ, измѣненія органическихъ веществъ, то, все таки, мы должны будемъ сказать, что этимъ, собственно, гипотеза Hoppe-Seyler'а о независимости броженія отъ жизненнаго акта бактерій по стольку, что, будто бы, *всѣ* явленія броженія можно свести къ дѣйствію какихъ нибудь чисто химическихъ ферментовъ, нисколько не подтверждается, такъ что по прежнему: «die Vermuthung zu gewagt ist, das nämlich im Organismus der Hefe ein Körper enthalten ist, der Zucker in Alkohol und CO_2 zerlegt» [1]), хотя Hoppe-Seyler и полагаетъ, что «eine Identificirung von Ferment mit den Organismen, in welchen es sich bildet, unzulässig ist». Дѣйствительно, всѣ эти, изолированные изъ бактерій, ферменты въ состояніи производить только обыкновенныя, уже извѣстныя, гидролитическія измѣненія органическихъ веществъ, измѣненія крайне важныя, какъ подготовительная ступень къ броженію, но не составляющія еще, собственно, процесса броженія. Такъ инвертинъ переводитъ тростниковый сахаръ только въ глюкозу, но не производитъ вовсе алкогольнаго броженія полученной глюкозы. Собственно же процессы броженія надо считать неразрывно связанными съ жизненнымъ актомъ самихъ бактерій и

[1]) Ueber Gährungsprocesse, Zeit. für. Phys. Chemie. Bd. II.

не могущими продолжаться при отсутствіи живыхъ микроорганизмовъ. Такъ Ниерре [1]) не могъ выдѣлить *химическаго* фермента, производящаго молочнокислое броженіе (а измѣненіе молочнаго сахара въ молочную кислоту, сопровождаемое выдѣленіемъ CO_2, надо считать за настоящее броженіе) и опыты Al. Schmidt'а, который старался выдѣлить такой химическій ферментъ изъ молочно-кислой бродящей смѣси, Ниерре по справедливости считаетъ неубѣдительными, такъ какъ возможность присутствія и живыхъ бактерій или споръ ихъ, у Schmidt'а не была исключена.

Дѣйствительно, Al. Schmidt поступалъ слѣдующимъ образомъ: онъ осаждалъ уксусною кислотою казеинъ молока, причемъ въ осадокъ вовлекался и ферментъ. Этотъ осадокъ извлекался глицериномъ и вытяжка глицериновая осаждалась алкоголемъ, послѣ чего изъ алкогольнаго осадка ферментъ извлекался водою. Но Ниерре, повторивъ опыты Al. Schmidt'а, нашелъ, что когда, добытый такимъ образомъ, ферментъ производилъ молочно-кислое броженіе сахара, то въ растворѣ этого фермента содержались уже и бактеріи, а когда онъ броженія не вызывалъ, то и бактерій въ немъ не было. Слѣдовательно, все дѣло было въ томъ, что растворъ фермента, который Al. Schmidt прибавлялъ къ молочному сахару, уже содержалъ бактеріи молочно-кислаго броженія, которыя и произвели то, что Al. Schmidt приписалъ химическому, растворимому ферменту (энзиму). Дѣйствительно, H. Mayer [2]), примѣняя разныя антисептическія средства, доказалъ, что ферментъ, производящій молочно-кислое броженіе, долженъ быть организованнымъ, ибо дѣйствіе его уничтожается такими средствами, которыя на химическіе ферменты (энзимы) не обнаруживаютъ особеннаго вліянія. А именно, ферментъ этотъ уничтожается: креозотомъ или карболовой кислотой (которая вообще на химическіе ферменты дѣйствуетъ слабо, см. ниже), хлороформомъ, горчичнымъ масломъ, тимоломъ и т. д. Другія же средства, напр., салициловая кислота, уничтожали этотъ ферментъ, будучи прибавлены въ такихъ дозахъ, которыя убійственны для бактерій, но не для химическихъ энзимъ.

§ 21. Итакъ, резюмируя все вышесказанное, можно констатировать, что при актахъ броженія и гніенія, неразрывно связанныхъ съ жизнедѣятельностью низшихъ организмовъ, про-

---

[1]) Untersuch. über die Zersetzung d. Milch durch Mikroorganismen. l. c.

[2]) Ueber d. Milchsäureferment und sein Verhalten gegen Antiseptica. Dissert. Dorpat. 1880, цитир. по Ниерре.

исходитъ полное распаденіе молекулы органическаго вещества, между тѣмъ, какъ химическіе ферменты (энзимы) и даже тѣ изъ нихъ, которые вырабатываются бактеріями, производятъ только гидролитическія, не глубоко идущія расщепленія. Но вмѣстѣ съ этимъ мы видимъ, что всякому процессу собственно броженія всегда предшествуетъ гидратація и такъ какъ эта гидратація сложныхъ органическихъ веществъ, по всей вѣроятности, всегда происходитъ при помощи тѣхъ химическихъ ферментовъ, которые, съ цѣлью предварительной, такъ сказать, обработки матеріала, производятся низшими организмами, то изъ этого уже ясно, насколько могутъ быть важны въ дѣлѣ питанія человѣка и другихъ высшихъ организмовъ тѣ продукты, которые составляютъ первую (гидролитическую) степень измѣненія бактеріями сложныхъ органическихъ пищевыхъ веществъ.

II. Опыты, произведенные мною относительно изолированія растворимыхъ химическихъ энзимъ—діастатическаго и триптическаго—изъ нѣсколько измѣнившихся отъ вліянія воздуха желтка и бѣлка куринаго яйца.

§ 1. Матеріалъ для этихъ опытовъ былъ доставленъ мнѣ проф. Тархановымъ, предложившимъ мнѣ испытать ферментныя свойства, приготовленныхъ имъ, глицериновыхъ вытяжекъ изъ бѣлка и желтка куринаго яйца. Поэтому, собственно, инициатива и мысль этихъ опытовъ принадлежатъ проф. Тарханову, а мнѣ—только исполненіе его предложенія. Результаты этихъ опытовъ я всегда демонстрировалъ проф. Тарханову. Конечно, мысль, что сложныя органическія вещества, т. е. бѣлки, измѣняясь, могутъ пріобрѣтать ферментныя свойства, не нова. Не говоря уже напр., о томъ, что Zymogen [1]) панкреатической железы, въ условіяхъ окисленія, напр., при пропусканіи кислорода, переходитъ въ ферментъ трипсинъ (панкреатинъ), можно указать на опыты Seegen'а и Kratschmer'а [2]), которые показали, что весьма многія бѣлковыя вещества, находящіяся въ періодѣ начинающагося разложенія, могутъ дѣйствовать слабо діастатически на крахмалъ. Однако у сказанныхъ авторовъ это діастатическое дѣйствіе проявлялось только послѣ нѣсколькихъ часовъ дѣйствія [3]). Поэтому, говорить объ выдѣленіи этими из-

[1]) Podolinski. Beitrag zur Kenntniss des Pancreatischen Eiweissfermentes Pflüger's Archiv. Bd. XIII.
[2]) L. c.
[3]) Руководство къ физіологіи Германна, Химія пищеваренія профессора Р. Мали и l. c.

слѣдователями діастатическаго фермента изъ измѣнившихся бѣлковыхъ веществъ никоимъ образомъ нельзя. И Seegen и Kratschmer, поэтому, прямо говорятъ, что слабое діастатическое дѣйствіе вообще присуще всѣмъ растворимымъ бѣлковымъ веществамъ.

Какъ извѣстно, далѣе, проф. Пашутинъ показалъ, что настои слизистыхъ оболочекъ весьма многихъ органовъ обладаютъ слабымъ діастатическимъ дѣйствіемъ на крахмалъ. Но раньше еще Bouchardat [1]) показалъ, что разныя бѣлковыя вещества, животнаго и растительнаго происхожденія, при своемъ разложеніи (гніеніи) пріобрѣтаютъ діастатическія свойства, а Mulder [2]) считалъ превращающіе крахмалъ ферменты просто за бѣлковыя вещества, находящіяся въ извѣстномъ періодѣ разложенія [3]). Доступъ кислорода къ проростающимъ сѣменамъ, — по Mulder'у, обусловливаетъ тѣ измѣненія бѣлковыхъ веществъ, заключающихся въ растеніяхъ, благодаря которымъ эти вещества дѣлаются ферментами (діастатическими). О пептонизирующемъ бѣлокъ ферментѣ, найденномъ E. Salkowski, мы говорили выше. Но, кромѣ того, уже давно E. Hüfner нашелъ во многихъ животныхъ тканяхъ, какъ то: легкихъ, слюнныхъ железахъ, а также и *въ гниломъ сырѣ* ферментъ, переваривающій фибринъ на подобіе трипсина и дѣйствующій, кромѣ того, еще діастатически на крахмалъ. Произведя элементарный анализъ этого фермента, Hüfner нашелъ, что добытый имъ ферментъ отличается отъ бѣлковыхъ веществъ бо̀льшимъ содержаніемъ кислорода въ своей частицѣ. Поэтому Hüfner высказалъ мысль, что неорганизованные ферменты происходятъ изъ бѣлковъ вслѣдствіе окисленія. Hüfner, Uebег ungef. Fermente und ihre Wirkungen. Journ. f. prak. Chemie, N. F. Bd. 5, S. 394, 1872 г. Слѣдов., мысль искать ферменты (энзимы) въ измѣнившихся бѣлковыхъ веществахъ была съ нашей стороны вполнѣ законна и оставалось только выдѣлить (неорганизованные) гипотетическіе ферменты изъ взятыхъ для опытовъ матеріаловъ [4])

---

[1]) Bouchardat. Ann. de Chimie et de Phys. T XIV. Sér. 3, p. 60, 1845.

[2]) Цитирована по Baranetzky: Die Stärkeumbildenden Fermente in d. Pflanzen.

[3]) Причемъ молекулы такого бѣлковаго вещества переходятъ въ состояніе движенія, въ дѣятельное состояніе.

[4]) A. Baranetzky (l. c.) нашелъ, что нерѣдко вытяжки изъ растительныхъ тканей, не имѣвшія вначалѣ никакого діастатическаго дѣйствія, пріобрѣтали таковое послѣ стоянія. Сюда можно также причислить и наблюденіе A. Pöhl'я (Zur Lehre son Pepton, Ber. d. Deutschen Chemischen Gesell. 1881, Bd. XIV, S. 1355), нашедшаго, что всѣ бѣлков. вещества переходятъ въ пептоны при прикосновеніи съ животн. и растительными тканями.

§ 2. Какъ сказано, этими матеріалами служили бѣлокъ и желтокъ куринаго яйца, которые (въ совершенно свѣжемъ состояніи) были тщательно отдѣлены другъ отъ друга и простояли недѣлю подъ стекляннымъ колоколомъ, надъ сѣрной кислотой, подвергаясь постепенной сушкѣ посредствомъ періодически повторявшагося выкачиванія воздушнымъ насосомъ [1]). Они сохранялись все время при комнатной t^0, т. е. около 16^0С. Послѣ высушиванія, желтокъ и бѣлокъ (отдѣльно) были тщательно размѣшаны съ безводнымъ глицериномъ, съ которымъ они настаивались въ теченіи 2—3 дней при комнатной t^0, для приготовленія изъ нихъ вытяжекъ, въ ватой закрытыхъ стклянкахъ. Эти глицериновыя вытяжки, какъ изъ бѣлка, такъ и изъ желтка, показывали слабощелочную реакцію.

Прежде всего было испробовано діастатическое дѣйствіе этихъ вытяжекъ: по 6 капель глицериновой вытяжки изъ бѣлка и желтка были прибавлены къ 2 порціямъ $1^0/_0$ крахмальнаго клейстера, полученнаго кипяченіемъ съ водой пшеничнаго крахмала и все поставлено при $t^0 40^0$С. въ термостатъ. Черезъ 10—15 минутъ, въ той порціи, куда была прибавлена глицериновая вытяжка изъ желтка, обнаружилось рѣзкое просвѣтлѣніе клейстера, который сдѣлался совершенно жидкимъ и Троммеровская проба показала обильное развитіе сахара (между тѣмъ, какъ въ самой глицериновой вытяжкѣ изъ желтка, взятой даже и въ большомъ количествѣ, эта же проба не обнаружила замѣтнаго присутствія сахара). Проба же съ глицериновой вытяжкой изъ бѣлка не показала, даже и послѣ нѣсколько часоваго стоянія, ни малѣйшаго развитія сахара. Послѣ этого былъ продѣланъ слѣдующій опытъ: прибавлено по 5 капель глицериновой вытяжки изъ желтка, растворенныхъ въ 5 куб. сант. дестиллированной воды, къ 2 порціямъ $1^0/_0$ крахмальнаго клейстера. Но одинъ растворъ этой глицериновой вытяжки предварителоно прокипяченъ, а другой—нѣтъ. И затѣмъ обѣ порціи поставлены въ термостатъ при 40^0С. Черезъ 10 — 15 минутъ та проба клейстера, куда была прибавлена некипяченная глицериновая вытяжка изъ желтка, оказалась совершенно разжиженной, провѣтленной, такъ что только на днѣ сосуда оста-

[1]) Въ промежуткахъ же между этими выкачиваніями, подъ вышесказаннымъ стекляннымъ колоколомъ находился обыкновенный атмосферный воздухъ, который и дѣйствовалъ на стоявшіе подъ колоколомъ бѣлокъ и желтокъ.

вался небольшой отсѣдь и Троммеровская проба обнаружила въ этой жидкости обильное развитіе сахара, между тѣмъ, какъ проба крахмала съ прокипяченной глицериновой вытяжкой изъ желтка никакого разжиженія не обнаружила и ни малѣйшихъ слѣдовъ сахара въ ней, при Траммеровской пробѣ, даже и послѣ нѣсколько часоваго дѣйствія, не найдено. Глицериновая же вытяжка изъ свѣжаго (не измѣненнаго отъ дѣйствія воздуха) желтка (и бѣлка) куринаго яйца, никакого діастатическаго дѣйствія на крахмалъ не обнаруживала. Былъ сдѣланъ именно слѣдующій опытъ. Желтокъ и бѣлокъ изъ свѣжаго куринаго яйца были (отдѣльно) прямо опущены въ абсолютный алкоголь. Затѣмъ, осадокъ былъ отфильтрованъ, высушенъ in Vacuo, растертъ въ порошокъ и поставленъ съ безводнымъ глицериномъ на нѣсколько дней. Эти глицериновыя вытяжки не показывали ни малѣйшаго діастатическаго дѣйствія на крахмальный клейстеръ.

Очевидно, стало быть, *что при небольшомъ измѣненіи* (далеко не доходящемъ до гніенія) *куринаго желтка отъ дѣйствія на него воздуха, въ желткѣ этомъ появлялся діастатическій ферментъ*, растворимый въ водѣ и могущій быть извлеченнымъ глицериномъ.

§ 3. Послѣ этого были мною испробованы глицериновыя вытяжки изъ, измѣнившихся отъ дѣйствія воздуха, бѣлка и желтка куринаго яйца на ихъ способность растворять бѣлокъ (фибринъ). Было взято по 2 к. с. той и другой вытяжки и разбавлено водой до 15 к. с., въ обѣ порціи положено одинаковое, приблизительно, количество хорошо промытаго фибрина изъ собачьей крови, и все поставлено на ночь при t° 35 — 40° С. На другой день тамъ, гдѣ была глицериновая вытяжка изъ бѣлка, произошло полное растворенie фибрина, при чемъ въ жидкости была видна только мельчайшая пыль. А тамъ, гдѣ была вытяжка изъ желтка, ни малѣйшаго измѣненія фибрина не обнаружилось. Тогда были продѣланы опыты съ кипяченными и некипяченными водными растворами глицериновой вытяжки изъ того же бѣлка: взято опять по 2 к. с. сказанной глицериновой вытяжки изъ бѣлка и разбавлено вновь водою до 15 к. с. Растворы эти имѣли почти нейтральную или крайне слабую щелочную реакцію. Одна порція такого раствора, содержавшаго 2 к. с. глицериновой вытяжки изъ бѣлка, была прокипячена, другая — нѣтъ и въ каждую положено, приблизительно, по равному количеству хо-

рошо промытаго фибрина. Все поставлено на ночь при t° 35—40° C. Черезъ 12 часовъ въ порціи, содержавшей некипяченную глицериновую вытяжку изъ бѣлка—полное раствореніе фибрина и въ жидкости замѣчалась только мельчайшая пыль. Въ порціи же, гдѣ былъ кипяченный растворъ глицериновой вытяжки изъ бѣлка, не замѣчалось ни малѣйшаго измѣненія фибрина. Растворъ, полученный въ первой колбѣ (содержавшей некипяченную глицериновую вытяжку изъ бѣлка), былъ отфильтрованъ отъ сказанной фибринной пыли и съ нимъ продѣлана біуретовая реакція, которая показала присутствіе значительнаго количества пептона. Но такъ какъ пептоны могли уже находиться и въ самой глицериновой вытяжкѣ изъ бѣлка, то была сдѣлана контрольная проба, изъ которой оказалось, что 2 к. с. глицериновой вытяжки изъ бѣлка, разбавленныя водою до 15 к. с., сами по себѣ (безъ продуктовъ перевариванія) даютъ синее или чуть фіолетовое окрашиваніе при производствѣ біуретовой реакціи; такое же окрашиваніе получилось и въ той пробѣ, въ которой находился фибринъ и прокипяченная вытяжка изъ бѣлка, между тѣмъ, какъ въ той пробѣ, въ которой находилась некипяченная вытяжка и которая вполнѣ переварила фибринъ, окрашиваніе получилось чисто розовое.

Такимъ образомъ, въ порціи, содержавшей некипяченную глицериновую вытяжку изъ бѣлка и переварившей положенный въ нее фибринъ, мы имѣли развитіе пептона. Что же касается выше сказанной пыли, оставшейся послѣ исчезновенія фибрина, то она оказалась глобулиннаго характера: она растворялась въ слабыхъ растворахъ NaCl; полученные растворы (солевые) осаждались: $MgSO_4$, прибавленной въ сухомъ видѣ до насыщенія жидкости, разбавленіемъ водою и пропусканіемъ CO_2 и наконецъ нагрѣваніемъ.

§ 4. Однако очевидно, что изъ вышесказанной глицериновой вытяжки изъ бѣлка, надо было получить, для полной убѣдительности, содержавшійся въ ней, растворимый ферментъ въ чистомъ видѣ, свободномъ, по мѣрѣ возможности, отъ бѣлковъ и затѣмъ продѣлать опытъ перевариванія въ условіяхъ антисептики, чтобы обезопасить себя какъ отъ тѣхъ бактерій, которыя бы могли находиться въ водномъ растворѣ сказаннаго неорганизованнаго фермента, такъ равно и отъ тѣхъ, которыя бы могли послѣ попасть въ пищеварительную жидкость. Чтобы избѣжать при своихъ пищеварительныхъ

опытахъ вліянія бактерій, я пользовался 2-мя антисептическими средствами: салициловой кислотой и солянокислымъ хининомъ. Конечно я употреблялъ эти вещества въ такой концентраціи, которая не уничтожала бы дѣйствія химическаго фермента, а между тѣмъ, была бы достаточна, чтобы предотвратить развитіе бактерій и убить, уже находящіяся въ жидкости, по крайней мѣрѣ, взрослыя особи, если не споры. Конечно, всякій разъ послѣ окончанія опыта производилось микроскопическое изслѣдованіе пищеварительной жидкости, чтобы убѣдиться въ дѣйствительности предпринятыхъ противубактерійныхъ мѣръ.

Руководствуясь съ одной стороны извѣстными данными De la Croix, Miquel'я и Koch'а [1]), а съ другой—тѣми результатами, которые я получилъ при опредѣленіи дѣйствія антисептическихъ средствъ на неорганизованные ферменты вообще, я употреблялъ салициловую кислоту въ такомъ количествѣ, чтобы содержаніе ея въ пищеварительной жидкости=1:800 и даже 1:600, а хининъ=1:400 и даже 1:200. И оказалось, что и въ присутствіи вышесказанныхъ антисептиковъ перевариваніе фибрина глицериновой вытяжкой изъ бѣлка происходило. Однако нужно сказать, что 1:600 салициловой кислоты и 1:200 хинина уже нѣсколько замедляло раствореніе фибрина, такъ что при употребленіи послѣдняго средства появлялась очень рѣзко выраженная мутность пищеварительной жидкости въ видѣ хлопьевъ глобулиннаго характера. Микроскопическое изслѣдованіе не обнаружило въ жидкости, послѣ окончанія опыта, ни малѣйшихъ признаковъ бактерій, такъ что можно было сказать, что раствореніе фибрина произвелъ химическій, неорганизованный ферментъ.

Но фермента этого въ свѣжемъ бѣлкѣ куринаго яйца, какъ то показалъ слѣдующій опытъ, не содержится. А именно: бѣлокъ свѣжаго куринаго яйца былъ прямо опущенъ въ абсолютный алкоголь и оставленъ 2 недѣли подъ спиртомъ. Осадокъ отфильтрованъ, высушенъ in vacuo, растертъ въ порошокъ и въ теченіи нѣсколькихъ дней оставленъ стоять съ безводнымъ глицериномъ. Затѣмъ взято 2 к. с. отфильтрованной глицериновой вытяжки, разбавлено водою до 15 к. с., туда прибавленъ кусокъ фибрина (сыраго) и затѣмъ все поставлено въ термостатъ на ночь, при t°35—40°C. На другой день —ни малѣйшаго измѣ-

[1]) Flügge. die Mikroorganismen. l. c.

ненія фибрина. Очевидно, стало быть, *растворяющій фибринъ ферментъ появился въ бѣлкѣ куринаго яйца, когда этотъ бѣлокъ началъ разлагаться* (причемъ дѣло еще до гніенія не дошло) вслѣдствіе дѣйствія на него воздуха или, лучше сказать, заключающихся въ воздухѣ бактерій.

Теперь спрашивается, какаго же характера былъ этотъ, растворяющій бѣлокъ, неорганизованный ферментъ, появляющійся въ бѣлкѣ куринаго яйца при сказанныхъ условіяхъ. То есть, имѣетъ-ли онъ характеръ пепсина или трипсина? Для разрѣшенія этого вопроса былъ продѣланъ опытъ перевариванія при прибавленіи 0,2%HCl и $^1/_2$% соды, и оказалось, что въ присутствіи 0,2%HCl перевариванія фибрина не происходило, а прибавленіе соды въ количествѣ $^1/_2$% нисколько перевариванію не вредило, а скорѣе помогало. Слѣдовательно, въ виду этихъ фактовъ, да и самого вида перевариванія фибрина, который при этомъ, какъ сказано, распадался въ мелкую пыль глобулиннаго характера, надо признать, что ферментъ имѣлъ характеръ трипсина, а не пепсина.

§ 5. Однако, нужно было еще выдѣлить этотъ ферментъ изъ глицериноваго раствора въ болѣе чистомъ видѣ, свободномъ отъ бѣлковъ и съ этимъ чистымъ ферментомъ вновь продѣлать тѣ же опыты.

Для полученія фермента въ чистомъ видѣ, вышесказанная глицериновая вытяжка изъ измѣненнаго бѣлка была осаждена избыткомъ абсолютнаго алкоголя и оставлена стоять 2 недѣли подъ этимъ алкоголемъ, чтобы перевести бѣлковыя вещества въ нерастворимое состояніе, какъ это дѣлалъ Al. Schmidt при добываніи своего фермента, свертывающаго кровь. Послѣ этого, осадокъ былъ отфильтрованъ отъ спирта, высушенъ in vacuo надъ сѣрной пластой и извлеченъ холодной водой. Съ полученной водной вытяжкой, которая должна была содержать растворъ искомаго фермента и которая была настолько свободна отъ бѣлковъ, что присутствія ихъ нельзя было доказать никакими извѣстными реакціями, и что даже сулема не производила въ этомъ растворѣ замѣтнаго помутнѣнія, я продѣлалъ слѣдующій опытъ: взято 4 порціи полученной водной вытяжки, по 15 к. с. каждая и въ 1-ю) положено значительное количество хорошо промытаго водою, сыраго фибрина изъ собачьей крови; 2) во вторую порцію, *предварительно прокипяченную*, положенъ небольшой клочекъ такого же фибрина, а къ 3-й и къ 4-й порціямъ прибавленъ водный растворъ салициловой кислоты

въ такомъ количествѣ, что въ 3-й порціи содержаніе салициловой кислоты было 1:800, а въ четвертой 1:600 и затѣмъ въ эти обѣ послѣднія порціи положено поровному изрядному количесгву промытаго фибрина. Затѣмъ все оставлено стоять въ термостатъ при t°35—40° C. на ночь. На другой день, черезъ 12 часовъ, во всѣхъ порціяхъ, кромѣ 2-й, гдѣ находилась прокипяченная водная вытяжка, произошло полное перевариваніе фибрина, отъ котораго оставалась мельчайшая пыль. Салициловая кислота въ количествѣ 1:800 не вліяла задерживающимъ образомъ на перевариваніе, но 1:600 салициловой кислоты нѣсколько замедляла перевариваніе: фибринъ превратился отчасти въ столь же мелкую пыль, какъ и въ первой колбѣ (безъ прибавки салициловой кислоты), а отчасти въ хлопья болѣе значительныхъ размѣровъ. Количества положеннаго фибрина во всѣ колбы, кромѣ 2-й, были очень значительны, такъ что переваривающую способность фермента надо назвать большею.

Послѣ этого были продѣланы слѣдующія реакціи: на пептоны (біуретовая) въ отфильтрованной, получившейся послѣ переваривания, жидкости,—и во всѣхъ порціяхъ, кромѣ той, гдѣ находилась прокипяченная водная вытяжка фермента и которая не растворила фибрина, найдено присутствіе значительнаго количества пептона, судя по получившейся окраскѣ. Затѣмъ испытана, оставшаяся послѣ перевариванія фибрина, пыль и она оказалась глобулиннаго характера. Сдѣланное микроскопическое изслѣдованіе не обнаружило въ жидкости, послѣ окончанія перевариванія, присутствія бактерій. Растворъ, полученный вытягиваніемъ водою осадка, пролежавшаго 2 недѣли подъ спиртомъ, имѣлъ нейтральную реакцію. Прибавленіе къ этому раствору соды, въ количествѣ до $^1/_2$% перевариванію нисколько не вредило. Слѣдовательно, мы имѣли дѣло съ ферментомъ трипсинообразнымъ. Я полагаю, что опыты эти достаточно убѣждаютъ, что: *въ начальной стадіи разложенія бѣлка (изъ куринаго яйца), измѣненнаго вслѣдствіе дѣйствія на него воздуха, развивается въ этомъ бѣлкѣ трипсинообразный ферментъ, производящій перевариваніе фибрина и безъ содѣйствія бактерій* (въ условіяхъ антисептики) и будучи выдѣленъ въ совершенно чистомъ видѣ, совершенно свободнымъ отъ бѣлка.

§ 6. Спрашивается теперь, что же, собственно, произвело такое измѣненіе бѣлка и желтка куринаго яйца, вслѣдствіе котораго въ бѣлкѣ появился трипитическій, а въ желткѣ—діа-

статическій ферментъ? Произвелъ ли такое измѣненіе воздухъ, т. е. его кислородъ, какъ таковой, или же это измѣненіе произвели, находящіяся въ воздухѣ, бактеріи? Wortmann [1]) высказывается за то, что бактеріи, при содѣйствіи кислорода, производятъ діастатическій ферментъ; мои опыты, къ которымъ я теперь перехожу, тоже говорятъ въ пользу того, что, безъ бактерій, одинъ кислородъ воздуха не можетъ превратить въ состояніе дѣятельнаго фермента бѣлковыя вещества, лишенныя ферментныхъ свойствъ. А именно оказалось, что если свѣжее куриное яйцо, *неразбитое*, значитъ, снабженное скорлупой, высиживать при t° 35—40° С., то даже и на 10 день, ни въ бѣлкѣ, ни въ желткѣ, нельзя констатировать никакихъ ферментныхъ свойствъ, при посредствѣ той процедуры, которая выше была описана.

§ 7. Здѣсь я долженъ замѣтить, что, по изслѣдованіямъ Krukenberg'a [2]), въ свѣжемъ желткѣ куринаго яйца содержится пептическій ферментъ, дѣйствующій только въ кислой средѣ. Діастатическаго же и триптическаго ферментовъ въ такомъ желткѣ не имѣется. Дѣйствительно, и я не нашелъ въ свѣжемъ желткѣ діастатическаго фермента, что же касается до заключающагося въ такомъ желткѣ пептическаго фермента, то даже и по Krukenberg'y, ферментъ этотъ очень слабый. А если держаться той процедуры, которую примѣнялъ я, т. е. осажденіе желтка абсолютнымъ спиртомъ, подъ которымъ желтокъ сохранялся затѣмъ продолжительное время, то изъ обработаннаго такимъ образомъ и высушеннаго впослѣдствіи in vacuo желтка нельзя глицериномъ извлечь никакого пептическаго фермента, какъ это признаетъ и Krukenberg, который поэтому извлекалъ прямо (безъ предварительной обработки алкоголемъ) ферментъ изъ желтка при посредствѣ глицерина и получалъ при этомъ крайне мутные, нечистые растворы, но дѣйствовавшіе немного сильнѣе. Поэтому Krukenberg говоритъ: «es lassen sich aus dem mit Alkohol und Aether behandelten Dotter durch Extraction mit Glycerin oder 0,2% HCl klare Lösungen leicht gewinnen, doch sind sie sehr wenig wirksam».

§ 8. То обстоятельство, почему въ моихъ опытахъ измѣнившійся куриный бѣлокъ заключалъ трипсинообразный ферментъ и не заключалъ діастатическаго, а измѣнившійся куриный

[1]) Ueber das Diastatische Ferment der Bacterien. Zeit. f. Phys. Chemie. Bd. VI.
[2]) Ueber ein peptisches Enzym im Eidotter vom Huhne. Unters. aus d. Phys. Institute d. Univ. Heidelberg, 1882, Bd. 2, S. 273.

желтокъ, наоборотъ, заключалъ діастатическій и не заключалъ триптическаго фермента, объясняется просто тѣмъ, что *химическая натура* бѣлковыхъ тѣлъ, заключающихся въ бѣлкѣ и желткѣ куринаго яйца, различна и потому при дѣйствіи воздуха (и бактерій) они измѣняются неодинаковымъ образомъ и въ результатѣ даютъ неодинаково дѣйствующіе ферменты. Я не отвергаю, впрочемъ, возможности, что и яичный бѣлокъ можетъ въ извѣстныхъ условіяхъ, образовать діастатическій ферментъ. Для того, чтобы рѣшить этотъ вопросъ, слѣдуетъ посмотрѣть, какъ будутъ измѣняться, въ смыслѣ образованія изъ нихъ различныхъ ферментовъ, подъ вліяніемъ стоянія на воздухѣ, разные виды бѣлковыхъ веществъ, какъ то: яичный альбуминъ, пораглобулинъ, вителинъ, сывороточный альбуминъ, фибринъ и т. д. Слѣд., на основаніи своихъ опытовъ я, какъ мнѣ кажется, могу сдѣлать слѣдующій выводъ: *триптическій ферментъ есть дериватъ бѣлковыхъ веществъ и можетъ быть полученъ при распаденіи этихъ веществъ, не доходящемъ до гніенія.*

§ 9. Такому выводу, по моему, не противурѣчатъ опыты Kühne [1]), въ которыхъ онъ доказываетъ, что при гніеніи фибрина съ весьма малою частичкою панкреатич. железы, происходившемъ при t° 35—40° C., ни посредствомъ глицерина, ни водою нельзя было извлечь никакого химическаго фермента, дѣйствующаго на подобіе трипсина. Дѣйствительно, у меня триптическій ферментъ является продуктомъ начинающагося разложенія бѣлковыхъ веществъ, не доходящаго до гніенія, между тѣмъ, какъ у Kühne дѣло уже перешло въ ясное гніеніе. Что же касается вопроса: не можетъ-ли и одинъ кислородъ воздуха, въ извѣстныхъ условіяхъ, и безъ бактерій произвесть такія измѣненія бѣлковыхъ веществъ, вслѣдствіе которыхъ эти бѣлковыя вещества переходятъ въ состояніе дѣятельныхъ химическихъ ферментовъ (энзимъ), то покуда на него нельзя отвѣчать ни положительно, ни отрицательно. Укажемъ только на то обстоятельство, что Marcano [2]) нашелъ въ проростающихъ маисовыхъ зернахъ микроорганизмы, производящіе діастатическій ферментъ, очевидно происшедшій на счетъ бѣлковыхъ веществъ зерна, разложившихся подъ вліяніемъ жизнедѣятельности этого микроба. Кромѣ того, Marcano нашелъ, что микробъ, находившійся въ непроросшихъ зернахъ, въ наружной оболочкѣ.

[1]) Jahresberichte d. Thierchemie VIII S. 357. Ueber Enzyme und Fermente.
[2]) Marcano l. c.

при прорастаніи проникалъ внутрь зерна (что не трудно себѣ представить въ виду тѣхъ разрывовъ, которые появляются на наружной оболочкѣ зеренъ при ихъ прорастаніи [1]). И я нашелъ тоже бактеріи въ осадкѣ, образованномъ алкоголемъ въ глицериновой вытяжкѣ изъ проросшихъ зеренъ. Въ виду этого, а также факта, констатированнаго Baranetzky [2], что раствореніе крахмальныхъ зеренъ, при прорастаніи сѣмянъ, всегда происходитъ раньше на внѣшней поверхности сѣмени, прилегающей къ наружному воздуху, я полагаю не будетъ очень смѣлымъ и въ прорастающихъ зернахъ, изслѣдованныхъ мною, поставить въ зависимость отъ найденныхъ бактерій происхожденіе пептонизирующаго бѣлокъ фермента, констатированнаго въ этихъ зернахъ, причемъ сказанныя бактеріи должны превращать бѣлков. вещества зерна въ состояніе фермента.

III. Изложеніе опытовъ, сдѣланныхъ съ цѣлью опредѣлить дѣйствіе нѣкоторыхъ антисептическихъ средствъ на пищеварительные (неорганизованные) ферменты.

§ 1. Уже изъ предъидущаго было видно, что бактеріи могутъ нерѣдко симулировать дѣйствіе неорганизованныхъ ферментовъ, такъ какъ, по крайней мѣрѣ, въ начальномъ періодѣ своей дѣятельности, онѣ могутъ воспроизводить тѣ же самыя гидролитическія разложенія органическихъ веществъ, что и энзимы. Вспомнимъ, напр., въ дополненіе ко всему вышесказанному, что тѣ же глобулины, которые получаются напр. изъ фибрина при панкреатическомъ перевариваніи, какъ первый продуктъ дѣйствія на него трипсина, получаются также и при гніеніи фибрина, какъ первый продуктъ дѣйствія бактерій. Поэтому сознаніе о необходимости производить всѣ пищеварительные опыты съ неорганизованными ферментами въ условіяхъ антисептики все болѣе и болѣе находитъ себѣ мѣста у современныхъ изслѣдователей въ этой области и въ настоящее время большинство изслѣдователей, не желающихъ впасть въ какую нибудь грубую ошибку, примѣняютъ, при своихъ опытахъ по перевариванію, тотъ или другой методъ антисептики. Укажемъ

[1]) Хотя Laurent Jahresberichte d. Thierch. XVI, (481) и говоритъ, что внутри растительныхъ тканей нѣтъ микроорганизмовъ, но это относится къ цѣльнымъ, напр. зернамъ, при прорастаніи же бактеріи могутъ легко проникнуть внутрь сѣмени.

[2]) Die Stärkeumbildenden Fermente in den Pflanzen. 1878.

для примѣра хоть на недавно появившуюся работу Harris'a и Tooth'a [1]), которые производили опыты какъ пепсиноваго, такъ и панкреатическаго пищеваренія въ условіяхъ антисептики. Въ особенности, конечно, важно примѣнять антисептическія предосторожности, производя опыты переваривания въ нейтральныхъ или щелочныхъ средахъ, а также и слабокислыхъ, но гдѣ присутствующая кислота есть слабая органическая, такъ какъ тамъ, гдѣ, какъ напр., при пепсиновомъ пищевареніи, мы имѣемъ дѣло съ кислотой минеральной, которая въ разведеніи 1 : 500 и даже меньше, по изслѣдованіямъ Koch'a, Miquel'я и др. [2]), вполнѣ препятствуетъ развитію бактерій и убиваетъ уже развитые экземпляры, мы другого антисептика можемъ и не употреблять. Примѣняли антисептическія средства съ цѣлью узнать: обусловливается-ли данное измѣненіе пищевыхъ веществъ химическими энзимами или микроорганизмами, уже давно. Укажемъ, кромѣ извѣстной работы Kühne съ панкреатической железой, еще на работу H. Mayer'a, цитированную выше [3]), а также и на цитир. выше работу Н. Васильева.

§ 2. Дѣйствительно, безъ этой предосторожности, можно нерѣдко придти къ совершенно ложнымъ выводамъ, какъ это напримѣръ сдѣлалъ В. П. Михайловъ, доказывающій, что діастазъ солода способенъ дѣйствовать не только на крахмалъ, превращая его въ сахаръ, но и на бѣлки (яичный альбуминъ), которые онъ переводитъ, будто-бы, въ глобулинъ (диссерт. В. П. Михайлова „О студенистомъ состояніи бѣлковыхъ веществъ", стр. 149). Гг. Михайловъ и Кравковъ, дѣйствуя на вчетверо разведенную яичную бѣлковину растворами діастаза, добытаго изъ солода, послѣ *суточнаго* (!) стоянія при t° 30—35°, получали вещества глобулиннаго характера. Я, съ своей стороны, продѣлалъ слѣдующій опытъ, на основаніи котораго могу, мнѣ кажется, придти къ заключенію, что гг. Михайловъ и Кравковъ имѣли дѣло не съ дѣйствіемъ фермента неорганизованнаго (діастаза) на бѣлки, а съ проявленіемъ жизнедѣятельности микроорганизмовъ. Именно я приготовилъ глицериновую вытяжку изъ продажнаго ячменнаго солода и вытяжку эту осадилъ избыткомъ абсолютнаго алкоголя. Затѣмъ я обработалъ часть

[1]) On the relations of microorganisms to pancreatic (proteolytic) digestion. Journ. of Phys. IX, p. 213.

[2]) Flügge, die Mikroorganismen, 1886.

[3]) Ueber das Milchsäureferment und sein Verhalten gegen Antiseptica. 1880.

этого алкогольнаго осадка на фильтрѣ водою и прибавилъ по 10 к. с. этого воднаго раствора къ 2 порціямъ, приблизительно равнымъ, сыраго фибрина. Но одна порція воднаго раствора фермента была прокипячена, другая—нѣтъ. Все поставлено на ночь при t° 35—40° С. На другой день та часть фибрина, куда былъ прибавленъ некипяченный водный растворъ моего фермента, оказалась растворенною, отчасти же превращенною въ мелкую пыль, оказавшуюся глобулиннаго характера. Но вмѣстѣ съ этимъ, въ жидкости было найдено громадное количество бактерій. Въ другой же порціи съ прокипяченнымъ раствором фермента никакого растворенія фибрина не оказалось и вмѣстѣ съ этимъ, конечно, не оказалось и бактерій. Прибавленіе къ перевариваюшей жидкости салициловой кислоты даже въ количествѣ 1 : 1,200 (а такое количество салициловой кислоты не прекращало еще сахарифицирующаго дѣйствія этого раствора діастаза на крахмалъ, какъ я въ томъ убѣждался) тоже препятствовало развитію бактерій и прекращало раствореніе (распыленіе) фибрина и образованіе глобулиновъ. Слѣд., выводъ г. Михайлова, что, будто бы, діастазъ можетъ измѣнять бѣлки до стадіи глобулиновъ, мнѣ кажется весьма мало вѣроятнымъ и я удивляюсь, почему г. Михайловъ не повторилъ своихъ опытовъ въ условіяхъ антисептики, напр. употребляя карболовую, салициловую кислоты и т. д. Ибо напр., по моимъ нижеприводимымъ опытамъ, карболовая кислота прекращаетъ дѣйствіе діастаза на крахмалъ только при 3,75% содержаніи ея. Гг. Михайловъ и Кравковъ могли тѣмъ смѣлѣе употреблять эти кислоты въ качествѣ антисептиковъ при своихъ опытахъ, такъ какъ они нашли, что бѣлокъ предохраняетъ діастазъ отъ разрушительнаго на него дѣйствія кислотъ [1]). Слѣд., имъ нужно было, если ужъ они боялись разрушить діастазъ прибавленіемъ салициловой кислоты въ дозахъ достаточныхъ для убіенія бактерій (т. е. около 1 : 800—1 : 1,000), кислоту эту прибавлять прежде къ яичной бѣлковинѣ, а затѣмъ уже туда прибавлять растворъ діастаза (вѣдь г. Кравковъ самъ же доказалъ важность *порядка* прибавленія кислоты и бѣлка въ опытахъ съ діастазомъ [2]). А для карболовой кислоты они могли и этого

[1]) Что, впрочемъ, уже гораздо раньше (въ 1885 г.) найдено Chittenden'омъ и Cummins'омъ (см. Jahresbericht d. Thierchemie. Bd. XV).

[2]) Статья г. Кравкова, въ Ж. Р. Х. О. 1887, (1) 387 «О неорганиз. ферментахъ».

не дѣлать, ибо, какъ сказано, карболовая кислота разрушаетъ діастазъ только при очень значительныхъ концентраціяхъ ея. Наконецъ, они имѣли въ своемъ распоряженіи цѣлый арсеналъ другихъ антисептическихъ средствъ, не дѣйствующихъ вредно на діастазъ, напр. хоть хининъ. Впрочемъ мнѣніе, что одинъ и тотъ же ферментъ можетъ оказывать и діастатическое дѣйствіе на крахмалъ, превращая его въ сахаръ и пептическое на бѣлки—не ново: когда Gorup-Besanez [1]) нашелъ въ прорастающихъ сѣменахъ нѣкоторыхъ растеній пептическій ферментъ, то онъ высказалъ мнѣніе, что это—тотъ самый діастатическій ферментъ, который появляется въ прорастающихъ сѣменахъ и который превращаетъ крахмалъ въ сахаръ. Но очевидно, что Gorup-Besanez имѣлъ дѣло не съ однимъ, а съ 2 ферментами, которые только не были имъ отдѣлены другъ отъ друга. Ибо вся масса извѣстныхъ фактовъ по этому предмету приводитъ къ убѣжденію, что всякій неорганизованный ферментъ можетъ оказывать дѣйствіе только на одну категорію органическихъ веществъ. Да, кромѣ того, у меня имѣются опыты, говорящіе тоже въ пользу существованія здѣсь 2 ферментовъ. А именно, я нашелъ, что 1—2% растворы хинина, которые, какъ увидимъ, на превращеніе діастазомъ крахмала въ сахаръ, не оказываютъ вреднаго вліянія, препятствуютъ растворяющему бѣлокъ дѣйствію фермента, добытаго изъ проросшихъ зеренъ. Наоборотъ, салициловая кислота, очень вредно дѣйствующая (даже въ разведеніи 1 : 1,000) на сахарифицирующую способность діастаза солода, въ этомъ разведеніи (и даже болѣе крѣпкомъ 1:800—1:600 см. выше) перевариванію фибрина ферментомъ, добытымъ изъ проросшихъ зеренъ, не мѣшаетъ.

§ 3. Какъ бы то ни было, изъ всего вышеизложеннаго уже видно, что нетолько при лабораторныхъ, такъ сказать, опытахъ, но даже и въ живомъ организмѣ роль бактерій въ дѣлѣ переваривашія бѣлковыхъ и другихъ пищевыхъ веществъ можетъ быть громадна. Дѣйствительно, если тѣ продукты, которые появляются въ первой стадіи дѣйствія микроорганизмовъ на пищевыя вещества, и которые представляютъ собою еще только результатъ гидратаціи сложныхъ органическихъ веществъ, какъ предшествующую ступень къ процессу собственно гніенія, будутъ всосаны раньше, чѣмъ бактеріи успѣютъ ихъ разложить на такія простыя вещества, которыя въ дѣлѣ пи-

[1]) l. c.

танія уже не могутъ быть полезными, то, очевидно, организмъ получитъ въ такомъ случаѣ вполнѣ пригодный для него пищеварительный продуктъ [1]). Какъ извѣстно также, организмъ имѣетъ разныя приспособленія для того, чтобы умѣрить дѣйствіе (измѣняющее пищевыя вещества) сказанныхъ гнилостныхъ бактерій и изъ этихъ приспособленій одно изъ главнѣйшихъ есть, безспорно, антисептическое дѣйствіе желчи. Но въ извѣстныхъ условіяхъ, т. е. при быстромъ всасываніи первыхъ, гидролитическихъ продуктовъ дѣйствія бактерій на пищевыя вещества, функція этихъ микроорганизмовъ очень полезна и извѣстны случаи, когда при полной невозможности поступленія въ кишечникъ какихъ бы то ни было пищеварительныхъ соковъ и заключающихся въ нихъ неорганизованныхъ ферментовъ, тѣмъ не менѣе, введенныя пищевыя вещества, по крайней мѣрѣ бѣлокъ и крахмалъ, отлично переваривались и, переходя въ пептоны и сахаръ, всасывались. Сюда относится случай фистулы кишечника, наблюдавшійся Бушемъ, а также и извѣстные опыты Биддера и Шмидта со введеніемъ въ кишечникъ кошки, изолированный отъ притока пищеварительныхъ соковъ, пищевыхъ веществъ [2]). На то обстоятельство, что микроорганизмы могутъ своею жизнедѣятельностью помогать неорганизованнымъ ферментамъ въ дѣлѣ пищеваренія, указываютъ также опыты Д-ра Рачинскаго, который, работая въ 1888 году подъ руководствомъ проф. Баталина, нашелъ въ желудкѣ собаки, кормимой мясомъ, 3 рода бактерій, разжижающихъ желятину и пептонизирующихъ бѣлокъ [3]). Также и W. Miller (Ueber Gährungsvorgänge im Verdauungstracte und die dabei betheiligten Spaltpilze) Jahresbericht d. Thierchemie XV, S. (509) нашелъ въ пищеварительномъ трактѣ много микроорганизмовъ, изъ которыхъ нѣкоторые дѣйствовали діастатически, а другіе—пептонирующимъ на бѣлки образомъ. Конечно, какъ справедливо замѣчаетъ Nencki, возражая противъ Pasteur'a, въ вполнѣ нормальныхъ условіяхъ организмъ можетъ обойтись и безъ вспомогательнаго дѣйствія бактерій, будучи снабженъ въ достаточной степени неорганизованными, химическими ферментами (энзимами).

---

[1]) Руководство къ физіологіи Германна, Химія пищеваренія проф. Р. Мали.

[2]) Руководство къ физіологіи Германна, Химія пищеваренія проф. Р. Мали, стр. 318.

[3]) Пептонизирующія бѣлокъ бактеріи въ желудкѣ собаки.

§ 4. Очевидно, стало быть, что желая, при помощи антисептическихъ средствъ, разъединить явленія, обусловливаемыя неорганизованными и организованными ферментами, надо было знать, какъ дѣйствуютъ эти антисептическія средства на неорганизованные ферменты и, конечно, прежде всего нужно было опредѣлить тѣ высшія дозы ихъ, которыя уже вполнѣ прекращаютъ дѣйствіе сказанныхъ ферментовъ. Между тѣмъ. имѣющіяся въ литературѣ данныя часто не вполнѣ вѣрны въ количественномъ, по крайней мѣрѣ, отношеніи и даже противурѣчатъ другъ другу. Такъ напр., согласно Jul. Müller'у [1]), салициловая кислота въ пропорціи 1:250 уничтожаетъ пепсиновое пищевареніе вполнѣ, а по Kühne [2]), эта же кислота, прибавленная къ пепсину въ избыткѣ, до образованія кристаллической кашицы, пепсину не вредитъ и переваривающаго его дѣйствія не нарушаетъ. Къ сожалѣнію, за недостаткомъ времени, я могъ изслѣдовать въ этомъ направленіи сравнительно немного антисептическихъ средствъ и то только по отношенію къ двумъ неорганизованымъ ферментамъ, а именно, по отношенію къ діастазу солода и пепсину.

§ 5. Опыты были прежде всего начаты съ діастазомъ. Діастазъ былъ приготовленъ по способу, близкому къ тому, который примѣнялъ Payen [3]), а именно: было взято $1^1/_2$ фунта продажнаго пшеничнаго мелкосмолотаго солода и настоено съ дестиллированной водой, при t° 35—37° C. Настой отфильтрованъ, къ фильтрату прилитъ очищенный 95° спиртъ въ избыткѣ и осадокъ выпавшихъ бѣлковыхъ веществъ+ферментъ оставленъ стоять въ теченіи нѣсколькихъ дней подъ спиртомъ. Затѣмъ этотъ осадокъ обработанъ дестиллированной водой и фильтратъ вновь осажденъ абсолютнымъ спиртомъ, въ избыткѣ прибавленнымъ. Осадокъ оставленъ на 2 недѣли подъ спиртомъ, затѣмъ отфильтрованъ и высушенъ in Vacuo надъ сѣрной кислотой. Получилось около 0,060 grm. сухаго порошка бѣлаго цвѣта и обладавшаго сильнымъ сахарифицирующимъ дѣйствіемъ, а именно: 1 часть полученнаго порошка, будучи растворена въ водѣ, причемъ растворъ получился совершенно прозрачный, а затѣмъ прибавлена къ 500 частямъ по вѣсу пшеничнаго (я для всѣхъ своихъ опытовъ съ діастазомъ бралъ

1) Jahresbericht d. Thierchemie V, S. 286, 1875.
2) Руковод. къ физіологіи Германна, отд. проф. Г. Мали.
3) Précis de Chimie Industrielle T. II, p. 424.

пшеничный крахмалъ) крахмала, свареннаго въ 50—100 разъ большемъ по вѣсу количествѣ дестиллированной воды, т. е. къ 1—2% крахмальному клейстеру, моментально (1—2 минуты) просвѣтляла этотъ клейстеръ, разжижала его и Троммеровская проба показывала обильное развитіе въ жидкости сахара. Поставленная же въ термостатъ или баню (я при своихъ опытахъ пользовался масляной баней въ видѣ ящика съ двойными стѣнками, въ которомъ t^0 поддерживалась всегда очень точно на желаемой высотѣ) при t^0 60° С. эта смѣсь крахмала и діастаза измѣнялась такимъ образомъ, что растворъ іода въ іодистомъ каліѣ давалъ сначала въ теченіи нѣсколькихъ минутъ все еще синее окрашиваніе (растворимый крахмалъ или амидулинъ Nasse былъ еще въ избыткѣ). Затѣмъ окрашиваніе отъ іода получалось фіолетовое — смѣсь эритродекстрина Брюкке и растворимаго крахмала; затѣмъ отъ іода получалось красное окрашиваніе — эритродекстринъ и затѣмъ, приблизительно черезъ 4 часа, исчезала всякая реакція съ іодомъ и развѣ на днѣ сосуда оставался небольшой отсѣдъ, чуть замѣтно иногда окрашивающійся еще отъ іода въ розовый цвѣтъ, вся же жидкость дѣлалась совершенно прозрачной, какъ вода, и показывала обильное развитіе въ ней сахара. Сахаръ опредѣлялся количественно титрованіемъ Фелинговой жидкостью, титръ которой былъ поставленъ по виноградному сахару, химически чистому и лишенному высушиваніемъ при 70° кристаллизаціонной воды. Такое опредѣленіе сахара, произведенное тогда, когда весь крахмалъ измѣнился на столько, что прибавленіе іода къ жидкости не давало уже болѣе никакого окрашиванія, показало, что, судя по количеству возстановленной окиси мѣди, $^1/_2$ крахмала перешла въ сахаръ, вычисленный какъ виноградный, хотя здѣсь, конечно, образовалась мальтоза, а $^1/_2$—въ декстринъ, неокрашивающійся отъ іода, т. е. ахроодекстринъ Брюкке, т. е. реакція происходила по слѣдующей формулѣ: $2C_6H_{10}O_5+H_2O=C_6H_{10}O_5+C_6H_{12}O_6$. Но если принять во вниманіе, что редуцирующая способность мальтозы относится къ редуцирующей способности винограднаго сахара какъ 66:100, то количество мальтозы составитъ около 75% взятаго крахмала, что согласно съ данными O'Sullivan'a [1]. При этомъ я долженъ замѣтить, что въ болѣе раннихъ стадіяхъ дѣйствія діастаза на крахмалъ, когда въ жидкости еще содержалась смѣсь мальтозы, амидули-

[1] O'Sullivan, journal of the Chem. Society, 1876, Цитир. по Baranetzky.

на и эритродекстрина, я, посредствомъ осторожнаго прибавленія іодоваго раствора, могъ убѣдиться, что съ іодомъ раньше соединяется эритродекстринъ (получается красное окрашиваніе), а затѣмъ уже цвѣтъ переходитъ въ синій (отъ непревращеннаго еще крахмала), что вполнѣ согласно съ показаніями Грисмайера, въ противуположность тому, что говоритъ Брюкке, по которому раньше всего съ іодомъ соединяется амидулинъ, а затѣмъ эритродекстринъ.

§ 6. Затѣмъ перехожу къ опытамъ съ антисептическими средствами. Но прежде я долженъ сказать, что мой діастазъ почти не давалъ указаній на присутствіе въ немъ бѣлковъ: ксантопротеиновая реакція получалась крайне неясной, равно какъ и біуретовая. Уксуснокислый свинецъ, средній и основной, осадка не давалъ; но отъ сулемы все еще получалось слабое помутнѣніе.

Опытъ съ карболовой кислотой. Взято 6 колбъ и въ каждую изъ нихъ налито по равному числу куб. сантиметровъ 1% крахмальнаго клейстера, хорошо прокипяченнаго и затѣмъ къ каждой пробѣ прибавлено *разное* количество куб. сантиметровъ воднаго раствора карболовой кислоты. Карболовая кислота бралась для растворенія кристаллическая, химически чистая. Затѣмъ концентрація крахмальнаго клейстера во всѣхъ пробахъ сдѣлана вновь одинаковой тѣмъ, что если въ какую-либо пробу прибавлялось меньше куб. сантим. карболоваго раствора, то взамѣнъ этого добавлялось столько-же куб. сантим. воды. Послѣ этого, во всѣ колбы было прибавлено по одинаковому числу куб. сант. воднаго раствора діастаза, причемъ діастазъ брался въ пропорціи 1 вѣсовой части на 250 вѣсовыхъ частей крахмала. Кромѣ того, приготовлена 7 контрольная проба крахмальнаго клейстера и діастаза, но безъ карболовой кислоты. Послѣ всего этого мы имѣли въ колбахъ слѣдующія концентраціи карболовой кислоты: 5%, 4%, 3,75%, 3%, 2,5% и 2% и 7-я проба — 0%. Всѣ колбы въ одно время поставлены въ баню при t° 60° С. Послѣ 4 часовъ стоянія онѣ вынуты и прокипячены для прекращенія дальнѣйшаго дѣйствія діастаза на крахмалъ, за исключеніемъ только первыхъ трехъ колбъ (съ 5%, 4% и 3,75% карболовой кислоты), въ которыхъ не замѣтно было нисколько разжиженія крахмала и потому онѣ вновь поставлены въ баню. Произведенное опредѣленіе сахара дало: въ колбѣ безъ прибавки карболовой кислоты получилось

полное количество сахара, т. е. $^1/_2$ крахмала перешло въ сахаръ, а $^1/_2$—въ ахроодекстринъ, причемъ іодъ не давалъ ни малѣйшаго окрашиванія. Проба съ 3% карболовой кислоты дала сахара въ 30 разъ меньше, чѣмъ контрольная проба (безъ прибавки карболовой кислоты); проба съ 2,5% карболовой кислоты дала сахара въ 10 разъ меньше, чѣмъ контрольная проба и проба съ 2% карболовой кислоты дала сахара въ 2,5 разъ меньше контрольной пробы. Въ 3 же первыхъ пробахъ (съ 5%, 4% и 3,75% карболовой кислоты) и на другой даже день не найдено ни малѣйшихъ слѣдовъ сахара и не замѣтно ни малѣйшаго разжиженія крахмала. Количество сахара, какъ сказано, опредѣлялось титрованіемъ Фелинговой жидкостью, причемъ я долженъ замѣтить, что мною не продѣлывалась вся сложная процедура, которая приводится въ книгѣ проф. Забѣлина [1]), т. е. осажденіе декстрина и непревращеннаго еще крахмала спиртомъ, выпариваніе спиртоваго раствора на водяной банѣ, раствореніе, полученнаго отъ выпариванія, сухаго остатка въ водѣ и уже титрованіе тогда этого раствора Фелинговой жидкостью. Вмѣсто всего этого я прямо титровалъ жидкость, полученную, какъ продуктъ дѣйствія діастаза на крахмалъ, не выдѣляя оттуда декстрина и непревращеннаго крахмала, если этотъ послѣдній еще находился въ жидкости. И я думаю, что такъ поступать будетъ вѣрнѣе, ибо, при осажденіи спиртомъ непревращеннаго крахмала и ахроодекстрина, изъ смѣси, вмѣстѣ съ декстриномъ, увлекается и сахаръ, который, повторной даже обработкой спиртомъ, вполнѣ выдѣленъ быть не можетъ [2]), черезъ что слѣдовательно происходитъ потеря [3]). Итакъ, даже 3% растворъ карболовой кислоты не уничтожаетъ вполнѣ дѣятельности діастаза, а между тѣмъ такой растворъ карболовой кислоты, конечно, бактеріи убьетъ.

---

[1]) Журналъ по Фармокологіи, проф. Забѣлина, за 1875, стр. 191.

[2]) Учебникъ Физіологіи Брюкке въ русскомъ переводѣ, стр. 234.

[3]) *Примѣчаніе.* Фелинговая жидкость готовилась такимъ образомъ: 34,5 gr. мѣднаго купороса растворялось въ 200 к. с. воды, затѣмъ въ другой колбѣ растворялось 173 gr. двойной нейтральной виннокаменно-каліевонатріевой соли (сегнетовой) въ 500 к. с. раствора NaHo, причемъ этотъ растворъ NaHo имѣлъ крѣпость по ареометру—1,12. Послѣ же слитія обоихъ растворовъ вмѣстѣ, все дабавлялось до литра дестиллированной водой. Растворъ Фелинговой жидкости хранился на холоду и въ темной стклянкѣ. (Коплаковъ, анализъ мочи, 173.

Эти мои результаты согласуются съ данными другихъ изслѣдователей, напр. Detmer'a [1]), который тоже нашелъ, что даже относительно большія количества карболовой кислоты не уничтожають сахарофицирующей способности діастаза, а именно: при 1 и 1,2% содержаніи карболовой кислоты количества образовавшагося сахара почти не разнились отъ тѣхъ чиселъ, которыя дала контрольная проба (безъ прибавки карболовой кислоты). Тоже и на сахарифицирующую дѣятельность слюны карболовая кислота, по опредѣленіямъ напр. Jul. Müller'a [2]) не вліяетъ въ малыхъ количествахъ и только при 5% ея содержаніи прекращается дѣйствіе птіалина на крахмаль [3]). Тоже нашелъ и Гордѣевъ, работая у проф. Забѣлина.

§ 7. *Опытъ съ іодоформомъ.* Въ 4 колбы прибавлено одинаковое количество кубическихъ сантиметровъ 1% крахмальнаго клейстера и затѣмъ въ 3 изъ нихъ насыпанъ очень мелко истолченный порошокъ іодоформа, въ количествѣ равномъ 1%, 2% и 5% по вѣсу жидкости. Конечно, порошокъ іодоформа былъ только сумендированъ въ жидкости, а не растворенъ; но отчасти въ ней, повидимому, и растворился, ибо жидкость, даже отфильтрованная отъ іодоформа, всетаки пахла имъ. 4-я же проба для контроля безъ іодоформа. Послѣ 6 часоваго стоянія произведенный анализъ показалъ въ пробахъ съ іодоформомъ почти вдвое (1,64) менѣе сахара, чѣмъ въ пробѣ безъ іодоформа.

§ 8. *Опытъ съ сулемой.* Опыты съ сулемой показали, что даже прибавленіе ея въ самыхъ незначительныхъ количествахъ, даже до 1:200,000, уже вполнѣ уничтожаетъ всякое дѣйствіе діастаза на крахмалъ, такъ что не наступало при этомъ ни разжиженія, ни сахарификаціи крахмала, даже послѣ суточнаго стоянія при t° около 60°C. Вначалѣ я приписывалъ такое вредное дѣйствіе сулемы на діастазъ тому обстоятельству, что мой растворъ діастаза отъ сулемы нѣсколько мутился, почему я могъ думать, что, образовавшаяся при этомъ муть, увлекала изъ раствора ферментъ, но впослѣдствіи, приготовивъ еще въ другой разъ діастазъ, уже настолько чистый, что отъ сулемы онъ не давалъ никакой мути (хотя я долженъ сказать, что

[1]) Ueber den Einfluss d. Reaction Amylum sowie Diastase enthaltenden Flüssigkeiten auf d. Verlauf d. ferment. Processes. Zeit. f. phys. Chemie Bd. VII.

[2]) Jahresbericht, d. Thierchemie V, S. 285.

[3]) Плюгге, цитировано по учеб. Германна, Химія пищеваренія Р. Мали.

этотъ второй діастазъ былъ уже нѣсколько слабѣе перваго, что, по всей вѣроятности, объясняется многократнымъ его осажденіемъ алкоголемъ), я и тогда могъ убѣдиться, что сулема, въ разведеніи вышесказанномъ, уничтожаетъ его дѣйствіе на крахмалъ. Врядъ ли такое дѣйствіе сулемы можно объяснить, присущей ея растворамъ, кислой реакціей, ибо незначительная степень кислотности превращенію крахмала не вредитъ, а напротивъ того, даже помогаетъ. А именно Detmer [1]) нашелъ, что малыя количества кислотъ: соляной, фосфорной, молочной (менѣе 1:1000 органическихъ кислотъ), а также и угольной, ускоряютъ превращеніе крахмала въ сахаръ. По Брюкке же 1:2,000 HCL не задерживаетъ сахарифицирующей дѣятельности слюны, но 1:1,000 прекращаетъ эту дѣятельность. Впрочемъ, опыты Chittenden'a и Cummins'a доказываютъ, что даже 0,001% HCL уже уничтожаетъ дѣйствіе діастаза. Однако же, даже принявши данныя Chittenden'a и Cummins'a (Jahresberichte d. Thierch XV), доказывающихъ крайне вредное дѣйствіе очень малыхъ количествъ свободной HCL на діастазъ, нельзя было бы одною кислотностью сулемы объяснить ея депримирующее вліяніе на діастазъ.

Сулема въ данномъ случаѣ также не дѣйствовала на діастазъ просто какъ тяжелый металлъ, ибо 1:5,000 средняго уксуснокислаго свинца нисколько не вредило дѣйствію діастаза на крахмалъ. Поэтому надо считать такое дѣйствіе сулемы, этого столь сильнаго агента и противъ организованныхъ ферментовъ, въ данномъ случаѣ за специфическое [2]).

§ 9) *Солянокислый хининъ* (средній) былъ испробованъ въ количествахъ 1 и 2%, причемъ ни малѣйшаго замедленія или ослабленія въ превращеніи крахмала не замѣчалось, что согласно съ данными Binz'a, по которому хининъ не мѣшаетъ дѣйствію слюны на крахмалъ.

§ 10. *Салициловая кислота.* Опытъ, сдѣланный съ первымъ, мною добытымъ, діастазомъ, показалъ, что если салициловая кислота прибавлялась въ такомъ количествѣ, что

---

[1]) l. c.

[2]) Впрочемъ Kjöldahl нашелъ, что всѣ тѣ соли тяжелыхъ металловъ, которыя имѣютъ кислую реакцію, дѣйствуютъ очень вредно на ферментную способность діастаза. Такимъ образомъ Kjöldahl сводитъ все объясненіе на депримирующее діастатическій ферментъ дѣйствіе кислоты. Untersuchungen über Zuckerbildende Fermente, Jahresberichte d. Thierchemie IX, S. 381).

содержаніе ея равнялось 0,3%, то и послѣ суточнаго даже стоянія при t° 60°С. никакого разжиженія крахмала и образованія сахара не получалось. Къ сожалѣнію, съ этимъ діастазомъ мнѣ не удалось сдѣлать дальнѣйшихъ опытовъ относительно дѣйствія болѣе слабыхъ растворовъ салициловой кислоты, а потому я принужденъ былъ для опредѣленія дѣйствія такихъ слабѣйшихъ дозъ салициловой кислоты пользоваться вновь приготовленнымъ мною діастазомъ, болѣе слабымъ, чѣмъ былъ первый діастазъ и который получился въ столь незначительномъ количествѣ, что не могъ вовсе быть собранъ въ сухомъ видѣ, почему я экспериментировалъ съ его воднымъ растворомъ неопредѣленной крѣпости. Для опыта взято 10 к. с. этого воднаго раствора діастаза и 10 к. с. 1% раствора крахмальнаго клейстера. Тогда оказалось, что прибавка 5 к. с. воды, содержавшей 0,5% по вѣсу салициловой кислоты вполнѣ уничтожала сахарифицирующее дѣйствіе этого діастаза; такъ что и послѣ 12 часовъ стоянія при t° 60°С не замѣчено никакого разжиженія крахмала, и ни малѣйшаго образованія сахара, между тѣмъ, какъ контрольная проба оказалась вполнѣ разжиженной и содержала много сахара. Такимъ образомъ, если основываться на этомъ опытѣ съ болѣе слабымъ діастазомъ, то окажется, что 0,1% салициловой кислоты прекращаетъ дѣйствіе діастаза на крахмалъ, что совпадаетъ съ данными Kjöldahl'я [1]). Однако, чтобы воспрепятствовать дѣйствію слюны на крахмалъ, требуются болѣе значительныя количества салициловой кислоты, какъ это нашелъ Jul. Müller [2]). Во всякомъ случаѣ, разница между салициловой кислотой и карболовой касательно силы дѣйствія этихъ кислотъ на діастазъ громадна: карболовая кислота дѣйствуетъ гораздо слабѣе салициловой; что, впрочемъ, и не представляетъ ничего удивительнаго, такъ какъ химическая натура обѣихъ этихъ кислотъ очень различна: салициловая кислота есть оксибензойная кислота меорто-ряда, а карболовая — даже и не кислота, а фенолъ, т. е. одноатомный, ароматическій спиртъ, хотя и способный давать съ основаніями солеподобныя соединенія. На основаніи всего вышесказаннаго несомнѣнно, что, примѣняя въ особенности солянокислый хининъ, а также и карболовую кислоту, мы можемъ вполнѣ асептически

[1]) Untersuchungen über Zuckerbildende Fermente. Jahresbericht d. Thierchemie IX, S. 381.

[2]) L. c., а также Stenberg. Jahresbericht d. Thierchemie. V. S. 293.

произвесть опытъ превращенія крахмала въ сахаръ, при посредствѣ діастаза, такъ какъ такія количества этихъ антисептическихъ средствъ, которыя несомнѣнно убійственны для низшихъ организмовъ, еще не уничтожаютъ ферментнаго дѣйствія діастаза.

§ 11. *Опыты съ пепсиновымъ перевариваніемъ*, подъ вліяніемъ нѣкоторыхъ антисептическихъ средствъ.

Для опытовъ составлялась пищеварительная жидкость, содержавшая на 1 литръ 0,5 grm. пепсина (русскаго) очень сильнаго и 0,2% HCl. Объектомъ переваріванія служилъ вареный фибринъ, добытый изъ собачьей крови, въ количествѣ 0,02 grm. отжатаго и высушеннаго между пропускной бумагой вареннаго фибрина на 10 к. с. пищеварительной жидкости. Вареный фибринъ особенно удобно употреблять потому, что, экспериментируя съ нимъ, особенно рѣзко выступаетъ разница растворяющей способности одной соляной кислоты и кислоты+пепсинъ, что имѣетъ большое значеніе при опытахъ, продолжительность которыхъ значительна. Вареный фибринъ въ одной HCl 0,2% разбухаетъ даже трудно и еще труднѣе растворяется (съ образованіемъ ацидъ-альбуминовъ). Между тѣмъ, какъ въ 0,2% HCl+пепсинъ онъ растворяется сравнительно легко. Кромѣ того, такой вареный фибринъ, будучи, какъ выше сказано, отжатъ и высушенъ между пропускной бумагой, удобенъ для отвѣшиванія. Перевариваніе совершалось всегда при t° 35—40°C. Окончаніе переваріванія опредѣлялось по слѣдующимъ признакамъ: по полному растворенію фибрина, полученію біуретовой реакціи на пептонъ въ полученномъ растворѣ, по неосаждаемости отфильтрованнаго раствора нейтральными солями щелочныхъ металловъ+уксусная кислота, по неполученію осадка отъ желтой кровяной соли+уксусная кислота, по отсутствію образованія осадка при осторожной нейтрализаціи жидкости содой или ѣдкимъ натромъ до слабо-фіолетоваго окрашиванія чувствительной синей локмусовой бумажки и кипяченіи. Кромѣ того, для сравненія скорости переваріванія при прибавленіи разныхъ агенцій, я поступалъ еще и такъ: прокипяченный съ водой фибринъ прожимался, какъ сказано, между пропускной бумагой и взвѣшивался. Затѣмъ, послѣ окончанія опыта, остатокъ непереваренного фибрина собирался на фильтрѣ, водой промывался и, прожатый и высушенный между пропускной бумагой, вновь взвѣшивался.

§ 12. *Опытъ съ сулемой.* (Сулема въ растворѣ употреб-

лявшагося пепсина никакого осадка не вызывала, но средній уксусно-кислый свинецъ давалъ осадокъ). Изъ опыта оказалось, что сулема въ количествѣ 1 : 200 уничтожала не только дѣйствіе ферментное пепсина, но и дѣйствіе HCl (0,2%), такъ что не происходило при этомъ и того разбуханія фибрина, которое происходитъ отъ 0,2% HCl. Это происходило вслѣдствіе того, что сулема въ сказанной концентраціи заставляла фибринъ свертываться, съеживаться. Сулема въ количествѣ 1 : 1,000 вполнѣ уничтожала перевариваніе фибрина; вѣсъ фибрина, подвергавшагося въ теченіи сутокъ дѣйствію пищеварительной жидкости и затѣмъ промытаго, прокипяченнаго съ дестиллированной водой и вновь высушеннаго между пропускной бумагой, оказался вполнѣ равнымъ вѣсу первоначально взятаго фибрина. При 1 : 2,000, сулема только рѣзко замедляетъ перевариваніе фибрина, но не уничтожаетъ его. Напр., контрольная проба показывала полное перевариваніе черезъ 2½ часа, а со сказанной прибавкой сулемы — не раньше какъ черезъ 10—12 часовъ (при t° 40° C). Замедленіе переваниванія замѣтно еще и при 1 : 4,000 сулемы [1]).

§ 13. *Салициловая кислота* въ количествѣ 1 : 400 вполнѣ уничтожаетъ перевариваніе. Напр., взято 0,017 прокипяченнаго и высушеннаго между пропускной бумагой фибрина, а послѣ суточнаго дѣйствія пищеварительной жидкости въ присутствіи 1 : 400 салициловой кислоты, остатокъ фибрина, промытый, прокипяченный съ дестиллированной водой и высушенный прожиманіемъ между пропускной бумагой = 0,016. Въ разведеніи же 1 : 1,000 салициловая кислота только замедляетъ перевариваніе приблизительно въ 3 раза, но тѣмъ не менѣе оно совершалось вполнѣ. Напр., взято 0,023 grm. прокипяченнаго фибрина, а послѣ стоянія, въ теченіи ночи при комнатной t° съ пищеварительной жидкостью, найдено всего 0,003 фибрина въ остаткѣ, между тѣмъ, какъ контрольная проба съ одной соляной кислотой (безъ пепсина) за это время едва начала показывать начало разбуханія фибрина. Какъ сказано, рядомъ другихъ опытовъ я убѣдился, что при содержаніи салициловой кислоты 1 : 1,000 перевариваніе фибрина замедляется прибли-

---

[1]) Также и Max. Marle: Ueber den Einfluss des Quecksilbersublimats auf die Magenverdauung. Jahresbericht d. Thierchemie V, S. 168, нашелъ, что сулема въ малыхъ даже дозахъ мѣшаетъ желудочному перевариванію, а въ большихъ—совсѣмъ останавливаетъ его.

зительно въ 3 раза. Слѣдовательно, мои опыты сходятся, до нѣкоторой степени, съ опытами Jul. Müller'a [2]), который нашелъ, что 1 : 250 салициловой кислоты прекращаетъ пепсиновое перевариваніе.

§ 14. *Солянокислый хининъ* въ количествѣ 1% вполнѣ уничтожаетъ перевариваніе фибрина и даже такое дѣйствіе производятъ $^2/_3$% хинина. Меньшія количества хинина только замедляютъ перевариваніе. Опишемъ ходъ опыта съ хининомъ. Взято 5 пробъ фибрина по 0,03 прокипяченнаго съ водой и прожатаго между пропускной бумагой фибрина. Ко всѣмъ пробамъ прибавлено по 10 к. с. составленной пищеварительной жидкости (1 grm. пепсина и 4 grm. HCl на 1 литръ воды) и 2% раствора хинина въ такомъ количествѣ, что мы имѣли въ колбахъ такое содержаніе хинина: 1%, $^2/_3$%, $^1/_2$% и $^1/_4$%, т. е. въ первую колбу было влито: 10 к. с. 2% раствора хинина + 10 к. с. пищеварительной жидкости; во вторую—10 к. с. пищеварительной жидкости + 7 к. с. хиннаго раствора + 4 к. с. воды; въ 3-ей—10 к. с. пищев. жидкости + 5 к. с. хиннаго раствора + 5 к. с. воды и въ 4-ой—10 к. с. пищеварительной жидкости + 2,5 к. с. хиннаго раствора + 7,5 к. с. воды. Пятая проба контрольная содержала на такое же количество взятаго фибрина 10 к. с. пищеварительной жидкости + 10 к. с. воды. Все поставлено въ баню при t° 40°C. въ 11 ч. дня. Въ $2^1/_2$ часа проба безъ хинина почти совершенно растворилась, а въ $3^1/_2$ часа перевариваніе въ ней совершилось вполнѣ, причемъ получилась совершенно прозрачная жидкость, которая, при посредствѣ вышеописанныхъ реакцій, не давала указанія на присутствіе въ ней бѣлка. Пробы съ 1% и $^2/_3$% хинина не показали ни малѣйшаго растворенія фибрина, вслѣдствіе чего, онѣ были оставлены на ночь, но и на другой день не показали никакого измѣненія фибрина, который только разбухъ. Проба съ $^1/_4$% хинина показала полное раствореніе фибрина черезъ 6, приблизительно, часовъ, а проба съ $^1/_2$%, въ виду того, что перевариваніе фибрина въ ней вечеромъ того дня еще не вполнѣ окончилось, была оставлена на ночь, и на другой день фибринъ въ этой пробѣ оказался вполнѣ растворенымъ.

§ 15. *Антипиринъ и резорсинъ.* 2% растворъ Антипирина сильно замедляетъ перевариваніе [3]). Напр., взято прокипячен-

---

[2]) Jahresbericht d. Thierchemie V, S. 286.

[3]) А въ 3% растворѣ даже и совершенно прекращаетъ.

наго и высушеннаго прожиманіемъ между пропускной бумагой 0,02 grm. фибрина, а послѣ 2 часоваго стоянія, при t° 40°С., а затѣмъ всю ночь при комнатной t°, непереваренный остатокъ =0,01, т. е. растворилась $^1/_2$. 1% растворъ антипирина замедляетъ перевариваніе, приблизительно, въ два раза. *Резорсинъ* въ 2% растворѣ, на сколько я могъ замѣтить, менѣе замедляетъ перевариваніе, чѣмъ 2% растворъ антипирина. При 1% же содержанія резорсина, перевариваніе было замедлено тоже почти вдвое.

Примѣчаніе. Въ присутствіи сулемы нельзя дѣлать реакціи съ желтой кровяной солью и уксусной кислотой, ибо и одна сулема даетъ съ желтой солью+уксусная кис. бѣлый, хлопчатый, синѣющій впослѣдствіи на воздухѣ осадокъ. Въ присутствіи же резорсина нельзя производить біуретовую реакцію, ибо резорсинъ даетъ въ этомъ случаѣ зелено-оливковое окрашиваніе.

Оканчивая этимъ пока мою работу, я сознаю, что мои изслѣдованія относительно дѣйствія дезинфекціонныхъ средствъ на неорганизованные, пищеварительные ферменты, очень неполны и недостаточны. Но, во всякомъ случаѣ, изъ моихъ опытовъ несомнѣнно слѣдуетъ, что какъ превращеніе крахмала въ сахаръ, такъ и бѣлка въ пептонъ мы можемъ произвесть въ условіяхъ антисептическихъ, исключающихъ возможность всякаго развитія микроорганизмовъ.

Здѣсь же я хочу высказать мою глубочайшую признательность глубокоуважаемому проф. И. Р. Тарханову, въ лабораторіи котораго произведена эта работа, за всѣ тѣ полезные совѣты и указанія, которые онъ удѣлялъ мнѣ, и за то теплое участіе, которое онъ всегда проявлялъ по отношенію къ работающимъ у него. Если же въ моей работѣ есть пробѣлы, то это произошло отъ того, что я, за недостаткомъ времени, не могъ исполнить въ точности всѣхъ указаній высокоуважаемаго Профессора.

ПОЛОЖЕНІЯ.

1. Неорганизованные ферменты (энзимы) нужно считать тѣлами на столько строго индивидуализированными, что каждый изъ нихъ можетъ проявлять присущее ему вліяніе только на одинъ извѣстный классъ органическихъ веществъ.
2. Всѣ пищеварительные опыты съ неорганизованными ферментами, производимые въ особенности при нейтральной или щелочной реакціи, должны происходить въ условіяхъ полной антисептики, такъ какъ въ противномъ случаѣ легко можно принять проявленіе дѣйствія микроорганизмовъ за эффектъ отъ неорганизованныхъ ферментовъ.
3. Въ нѣкоторыхъ условіяхъ расщепленія или распаденія бѣлковыхъ веществъ, появляются въ нихъ (бѣлкахъ) вещества, обладающія ясно выраженными ферментными свойствами, причемъ въ такихъ расщепляющихся бѣлковыхъ веществахъ могутъ появляться діастатическій или триптическій энзимы.
4. Въ первыхъ фазахъ дѣйствія низшихъ организмовъ на сложныя органическія вещества образуются гидролитическіе продукты, обладающіе весьма важнымъ питательнымъ значеніемъ для человѣка или другихъ высшихъ организмовъ.
5. Брюшной тифъ на Кавказѣ въ тѣхъ мѣстностяхъ, въ которыхъ господствуетъ перемежная лихорадка, имѣетъ обыкновенно тяжелое теченіе, причемъ самыя опасныя для больныхъ осложненія чаще всего появляются со стороны кишечнаго канала.
6. Невральгическія головныя боли нерѣдко обусловливаются пораженіями носовой полости и потому при существованіи такихъ болей изслѣдованіе носа необходимо.

Curriculum vitae.

Игнатій Ильдефонсовичъ Мрочковскій, родился въ 1856 году, въ Минской губерніи, происходитъ отъ дворянъ помѣщиковъ этой губерніи, католическаго вѣроисповѣданія. Кончилъ курсъ въ Минской губернской классической гимназіи. Въ 1874 году поступилъ въ С.-Петербургскій Университетъ на факультетъ Естественныхъ Наукъ, гдѣ и окончилъ курсъ въ 1878 году со степенью Кандидата. Въ этомъ же году поступилъ въ В. М. Академію, въ которой кончилъ курсъ въ 1881 году лекаремъ съ отличіемъ (cum eximia laude). Поступилъ на службу (какъ бывшій стипендіатъ) военнымъ врачемъ на Кавказъ. Теперь состоитъ младшимъ врачемъ въ 81 пѣхотномъ Апшеронскомъ полку, въ гор. Т. Х. Шурѣ, Дагестанской области. Во время пребыванія въ Университетѣ и, затѣмъ, состоя на службѣ, напечаталъ нижеслѣдующіе труды.

1. Ueber den Phosphorsäuregehalt im Schafs-Kalbs-und Hundeblutserum. Въ Centralblatt für die Medicinischen Wissenschaften, за 1878 годъ. Работа произведена подъ руководствомъ проф. Сѣченова.
2. Изслѣдованіе объ Абасъ-Туманскихъ минеральныхъ водахъ Тифлисской губерніи. Въ протоколахъ Кавказскаго Медицинскаго общества за 1882—83 годъ.
3. Описаніе эпидеміи брюшнаго тифа въ гор. Грозномъ, Терской области. Въ «Военно-Медицинскомъ журналѣ» за Сентябрь 1885 года.
4. Къ вопросу о пищевомъ довольствіи солдатъ 21 пѣхотной дивизіи на Кавказѣ. «Въ Военно-Медицинскомъ журналѣ» за Мартъ 1888 года.